

Aus dem Institut für Physiologische Chemie
der Johannes-Gutenberg - Universität Mainz

ENZYME

Grundlagen und Anwendungsbeispiele
enzymatischer Reaktionen

- eine didaktische Arbeit -

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Würde des Doktors der Zahnmedizin
der Johannes-Gutenberg-Universität in Mainz

den Medizinischen Fachbereichen vorgelegt

von

Joachim Weßling

aus Herne

Mainz

1978

Aus dem Institut für Physiologische Chemie
der Johannes-Gutenberg - Universität Mainz

E N Z Y M E

Grundlagen und Anwendungsbeispiele
enzymatischer Reaktionen

- eine didaktische Arbeit -

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Würde des Doktors der Zahnmedizin
der Johannes-Gutenberg-Universität in Mainz

den Medizinischen Fachbereichen vorgelegt

von

Joachim Weßling

aus Herne

Mainz

1978



Fachbereichsdekan : Professor Dr. D. Weinblum

1. Gutachter : Professor Dr. K.H. Bäßler

2. Gutachter : Professor Dr.Dr. B. Schmidt

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	1
2.	Reaktionskinetik und Enzyme	2
	2.1. Massenwirkungsgesetz	
	2.2. Reaktionstypen	
	2.3. Thermodynamik chemischer Reaktionen	
3.	Katalyse chemischer Reaktionen	27
	3.1. Aktivierungsenergie	
	3.2. Aufgabe des Katalysators	
	3.3. Fließgleichgewicht	
4.	Natur der Enzyme	39
	4.1. Aufbau der Enzyme	
	4.2. Arbeitsweise von Enzymen	
	4.3. Theorie von Michaelis und Menten	
	4.4. Darstellung nach Lineweaver-Burk	
5.	Einflußfaktoren auf die Enzymaktivität	54
	5.1. Limitierung durch k_{+2}	
	5.2. Aktivität in Abhängigkeit von der Temperatur	
	5.3. Abhängigkeit der Enzymaktivität vom pH	
	5.4. Abhängigkeit der Aktivität von Ionen	
6.	Enzyminduktion und Enzymrepression	62
	6.1. Wirkungsweise des Repressors	
	6.2. Induktor inaktiviert Repressor	
7.	Spezifität der Enzymkatalyse	68
	7.1. Wirkungsspezifität	
	7.2. Substratspezifität	
	7.3. Gruppenspezifität	
	7.4. Optische Spezifität	
	7.5. Isoenzyme	
8.	Hemmung enzymatischer Reaktionen	75
	8.1. Nichtkompetitive Hemmung	
	8.2. Kompetitive Hemmung	
	8.3. Unkompetitive Hemmung	
	8.4. Hemmung durch Substratüberschuß	
	8.5. Allosterische Hemmung	
	8.6. Antienzyme	
9.	Nomenklatur und Systematik der Enzyme	86
	9.1. Nomenklatur	
	9.2. Systematik	



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552618_0057

10.	Aktivitätseinheiten der Enzyme	90
	10.1. Internationale Einheit	
	10.2. Aktivitätsbestimmung im optischen Test	
	10.3. Direkter optischer Test	
	10.4. Gekoppelter optischer Test	
11.	Enzyme in der Zelle und medizinisch-diagnostische Bedeutung von Enzymbestimmungen	96
	11.1. Wirkungsweise der Enzyme in der lebenden Zelle	
	11.2. Medizinische Bedeutung der Enzymologie	
	11.3. Einfluß von Pharmaka auf Enzyme	
12.	Literaturhinweise	102
	Lebenslauf	103

ENZYME

=====

Katalysatoren des Stoffwechsels

Schlüssel zur Stoffwechselregulation

Reagentien für Substratbestimmungen

Hilfe bei Diagnose und Therapie

1. Einleitung

Die Lehre von der Wirkungsweise der Enzyme als zunächst rein naturwissenschaftliches Fach hat berechtigten Eingang in die Medizin und entsprechend auch ihre Ausbildung gefunden. Die Enzyme führen uns zum Verständnis der verschiedenen Wege des Stoffwechsels. Im diagnostischen Bereich können Enzymaktivitäten in Körperflüssigkeiten und Substrate des Stoffwechsels mit enzymatischen Tests bestimmt werden.

Der Kliniker hat mit enzymatischen Tests ein diagnostisches Hilfsmittel zur Verfügung, mit dem er Erkrankungen einzelner Organe voneinander abgrenzen kann. Herz und Leber zum Beispiel besitzen relativ organspezifische Enzymmuster; vermehrtes Auftreten entsprechender Enzyme im Blut lassen Rückschlüsse auf Schweregrad und Verlauf von Schädigungen dieser Organe zu.

Nicht zuletzt greifen eine Reihe von Medikamenten auf dem Umweg über die Enzyme in das Stoffwechselgeschehen ein.

*Reaktionen im
Fließgleichgewicht
Massenwirkungsgesetz*

2. Reaktionskinetik und Enzyme

Nachfolgend werden die Bedingungen enzymatischer Reaktionen beschrieben. Die durch das Massenwirkungsgesetz beschriebenen Gleichgewichtslagen gelten für jede chemische Reaktion, also auch für Enzym-Reaktionen.

$$A + B \rightleftharpoons C + D$$

$$A + B \rightarrow C + D$$

$$A + B \leftarrow C + D$$

2.1. Massenwirkungsgesetz

Die Kinetik einer chemischen Reaktion hängt von verschiedenen Faktoren ab (z.B. Druck und Temperatur). Betrachten wir zum Beispiel die Hin-Reaktion $A + B \rightarrow C + D$ und die gleichzeitig ablaufende Rückreaktion $C + D \rightarrow A + B$. Im biologischen Bereich verlaufen die meisten derartiger Reaktionen reversibel. Bei einigen ist jedoch das Gleichgewicht so stark nach einer Seite verschoben, daß man von einer praktisch irreversiblen Reaktion sprechen kann.

Hin-Reaktion : v_1

Rück-Reaktion : v_2

$$v_1 = v_2$$

MWG

scheinbar stationärer
Zustand in der Gleich-
gewichtslage

- 1 -

Die Hin-Reaktion, die zur Bildung von C + D führt, kennzeichnen wir mit der Reaktionsgeschwindigkeit v_1 , die Rück-Reaktion mit der Reaktionsgeschwindigkeit v_2 . Wenn die Reaktionsgeschwindigkeiten v_1 und v_2 der Hin- und Rück-Reaktion gleich groß sind, befindet sich das System im Gleichgewicht; die Konzentrationen der Reaktionspartner ändern sich nicht mehr. Durch radioaktive Markierung eines Reaktionspartners kann jedoch ein Umsatz nachgewiesen werden.

Dieses Gleichgewicht können wir mit einer Gleichgewichtskonstanten kennzeichnen.

Ableitung des Massenwirkungsgesetzes

$$v_1 = k_1 \times [A] \times [B] = k_1 \times c_{A,B} \quad (1)$$

([] für molare Konzentrationen)

$$v_2 = k_2 \times [C] \times [D] = k_2 \times c_{C,D} \quad (2)$$

Die Reaktionsgeschwindigkeit der Hin-Reaktion hängt ab von der Konzentration der Reaktionspartner A und B und einer Geschwindigkeitskonstanten k_1 : Gleichung (1)

Die eckigen Klammern bezeichnen die molare Konzentration der Reaktionspartner. Die Gleichung enthält eine Wahrscheinlichkeitsaussage: Damit Moleküle der Art A mit Molekülen der Art B reagieren können, müssen sie zusammenstoßen. Die Häufigkeit oder Wahrscheinlichkeit von Zusammenstößen zwischen A und B wächst mit dem Produkt ihrer Konzentrationen. Die Geschwindigkeitskonstante ist ein Maß für den Anteil "erfolgreicher" Zusammenstöße.

Für die Rück-Reaktion gelten die gleichen Überlegungen: Gleichung (2).

Ableitung des Massenwirkungsgesetzes

$$v_1 = v_2 \quad (3)$$

$$k_1 \times [A] \times [E] = k_2 \times [C] \times [B] \quad (4)$$

$$\frac{[C] \times [D]}{[A] \times [B]} = \frac{k_1}{k_2} = K \quad (5)$$

$$K = \frac{k_1}{k_2} : \text{Massenwirkungskonstante}$$

Wenn v_1 und v_2 gleich groß geworden sind, hat sich ein Gleichgewicht eingestellt: Gleichung (5) und (4).

Umformuliert ergibt sich Gleichung (5).

Die Konstante $K = \frac{k_1}{k_2}$ bezeichnen wir als die Massenwirkungskonstante, die Formel als das Massenwirkungsgesetz. Das Massenwirkungsgesetz gibt also das Verhältnis der Konzentrationen der Reaktionsteilnehmer an, wenn das Gleichgewicht eingetreten ist. Die Größe der Massenwirkungskonstante hängt unter anderem von Temperatur und pH ab.

Richtige Antwort: E

Beantworten Sie die folgende Frage mit einer der Antworten A - E

Welche der folgenden Ergänzungen 1-5 ist richtig?

Man spricht von einem scheinbar stationären Zustand in der Gleichgewichtslage, wenn

1. eine Reaktion $A + B \rightleftharpoons C + D$ reversibel verläuft
2. eine Reaktion $A + B \rightarrow C + D$ irreversibel verläuft
3. die Reaktionsgeschwindigkeiten v_1 und v_2 vernachlässigt werden können
4. das Massenwirkungsgesetz keine Anwendung findet
5. die Werte von Druck, Temperatur und pH nicht definiert sind

- A. Antwort 1 ist richtig
- B. Antworten 2, 3 und 5 sind richtig
- C. Antwort 3 ist richtig
- D. alle Antworten 1 - 5 sind richtig
- E. keine der Antworten 1 - 5 ist richtig

Richtige Antwort : B

Frage:

Was beschreibt die folgende Formel?

$$\frac{[C] \times [D]}{[A] \times [E]} = \frac{k_1}{k_2} = K$$

- A. das Verhältnis der Konzentrationen von Reaktionsteilnehmern bei Start der Reaktion
- B. das Verhältnis der Konzentrationen von Reaktionsteilnehmern einer Reaktion im Gleichgewicht
- C. die reziproke Formulierung des Massenwirkungsgesetzes für die Reaktion $A + B \rightleftharpoons C + D$
- D. die Abhängigkeit der Massenwirkungskonstante einer Reaktion von vorgegebenen Substratkonzentrationen
- E. Keine der Aussagen A - D trifft zu

*Nach der Zahl
der Reaktionspartner
richtet sich die Ordnungsklasse
der Reaktion*

2.2. Reaktionstypen

In diesem Abschnitt wird über Reaktionsgeschwindigkeiten und über Reaktionstypen berichtet. Je nachdem, ob und wie die Reaktionsgeschwindigkeit von der Konzentration der Teilnehmer abhängt, spricht man von Reaktionen nullter, erster, zweiter und höherer Ordnung.

Verschiedenartige Reaktionen verschiedener Ordnungen können auch gekoppelt verlaufen.

Abhängigkeit der Geschwindigkeit:

$$v = \frac{-dc}{dt}$$

c = initiale Konzentration
eines Stoffes

t = Zeit

Dimension: (Mol x Liter⁻¹ x sec⁻¹)

Die Massenwirkungskonstante sagt nur etwas über die Gleichgewichtslage einer Reaktion aus, aber nichts über die Geschwindigkeit, mit der diese Gleichgewichtslage erreicht wird. Die Geschwindigkeit wird im Allgemeinen aus der Änderung der Konzentration des reagierenden Stoffes oder Produktes (Δc) in der Zeiteinheit (Δt) bestimmt und in der Dimension ($\text{Mol} \times \text{Liter}^{-1} \times \text{sec}^{-1}$) angegeben.

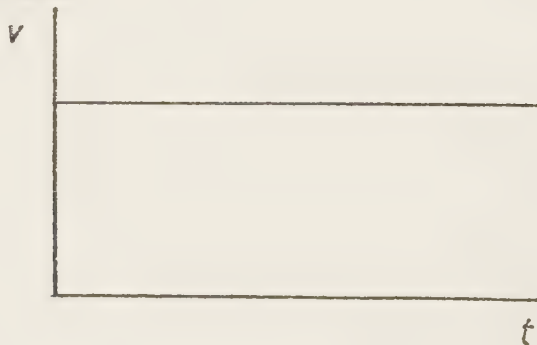
Die Geschwindigkeit einer Reaktion kann sich mit der Zeit charakteristisch ändern. Die effektive Bildungsgeschwindigkeit einer Substanz ergibt sich aus der Differenz der Hin- und Rück-Reaktionsgeschwindigkeiten. Dies führt zur Unterscheidung verschiedener Reaktionstypen.

Reaktion 0. Ordnung

mathematisch :

$$\frac{-dc}{dt} = k_{0. Ordnung}$$

graphisch :



Reaktion 0. Ordnung

Ist die Geschwindigkeit unabhängig von c , so wird in der Zeiteinheit jeweils eine konstante Menge des reagierenden Stoffes umgesetzt, und die Reaktionsgeschwindigkeit ändert sich nicht mit der Zeit. Solche Reaktionen werden als Reaktionen "nullter Ordnung" bezeichnet.

Bei dieser und den folgenden Überlegungen gehen wir davon aus, daß wir eine Reaktion in einem geschlossenen System durchführen und daß nach Reaktionsstart kein Substrat mehr zugesetzt wird. In der Zelle verlaufen solche Reaktionen bei (nahezu) konstanter Temperatur, konstantem Druck und ohne Volumenänderungen. Die Reaktion nullter Ordnung ist wichtig für die Betrachtung enzymatischer Reaktionen.

Beispiel:

Wenn man Wasser von 100° erhitzt, wird Wasser verdampfen. Die Verdampfungs menge hängt - Störfaktoren als eliminiert vorausgesetzt - nur von der zugeführten Energiemenge ab. Die Verdampfungs geschwindigkeit ist in weiten Grenzen unabhängig von der Wassermenge. Die graphisch aufgetragene Kinetik wird wie auf der gegenüberliegenden Seite aussehen. Natürlich nimmt die Verdampfungs geschwindigkeit ab, wenn das Wasser verbraucht ist. Auch bei enzymatischen Reaktionen ist eine Reaktion nullter Ordnung nur innerhalb bestimmter Grenzen zu verwirklichen.

Das Prinzip der enzymatischen Reaktion nullter Ordnung hängt jedoch nicht wie in unserem Beispiel von der Energiezufuhr ab.

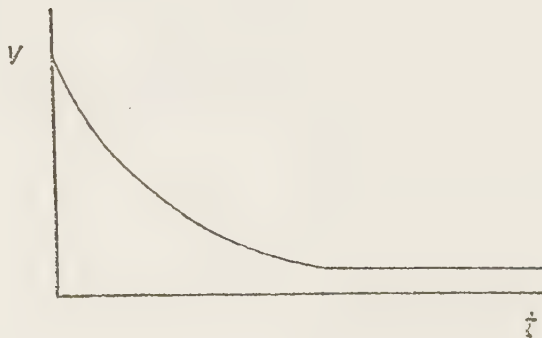
Reaktion 1. Ordnung



mathematisch :

$$V = \frac{-dc}{dt} = k_{1. Ordnung} \times c$$

graphisch :



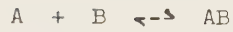
Reaktion 1. Ordnung

Die Geschwindigkeit ist abhängig von c , ändert sich also je nach der Menge des noch vorhandenen Stoffes und nimmt daher mit der Zeit ab. Da dies für eine Reaktion gilt, bei der nur Moleküle gleicher Art zusammenstoßen, wird sie als monomolekulare Reaktion bezeichnet, deren empirischer Ablauf mit dem Zeitgesetz für Reaktionen "erster Ordnung" beschrieben werden kann.

Moleküle der Art A wandeln sich in Moleküle der Art E um oder zerfallen in Moleküle der Arten C und D: Die graphische Darstellung dieser Reaktion entspricht der einer Exponentialfunktion. Als Beispiel sei hierfür der Zerfall von Radioisotopen angeführt.

Die Hydrolyse einer Substanz ähnelt einer monomolekularen Reaktion, da die Konzentration des Wassers während der Reaktionszeit praktisch konstant ist. Man spricht in diesen Fällen von einer pseudo-monomolekularen Reaktion.

REAKTION 2. ORDNUNG



mathematisch:

$$v = \frac{-dc_1}{dt} \times \frac{-dc_2}{dt} = k_{2.\text{Ordnung}} \times c_1 \times c_2$$

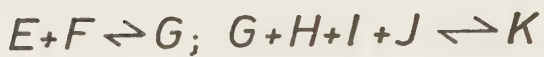
Reaktionen höherer Ordnung

Eine Reaktion, bei der zwei Molekülarten A und B mit den Konzentrationen c_1 und c_2 zusammenstoßen, bezeichnet man als bimolekulare Reaktion. Sie kann nach dem Gesetz für Reaktionen "zweiter Ordnung" ablaufen.

Anders ausgedrückt: Wenn die Anfangskonzentrationen von A und B gleich sind, nimmt die Reaktionsgeschwindigkeit mit der zweiten Potenz der Restkonzentration von A und B ab.

Nehmen mehr als zwei Reaktionspartner an einer Reaktion teil, liegt eine Reaktion höherer Ordnung vor. Die Ordnungsstufe entspricht der Zahl der Reaktionsteilnehmer. Die mathematische Formulierung wird entsprechend schwierig.

Gekoppelte Reaktionen



Gekoppelte Reaktionen

Sind mehrere Reaktionen zu einem komplexen Reaktionsablauf gekoppelt, sprechen wir von gekoppelten Reaktionen. Hier ist die langsamste Teilgeschwindigkeit limitierend für die Reaktionsgeschwindigkeit.

Eei der Reaktion $A + B \rightleftharpoons C \dots$ bis K sei die Teilreaktion $C + D \rightleftharpoons E$ die langsamste. Nach dieser Reaktion wird sich die Gesamtreaktionsgeschwindigkeit von A bis K richten. Die Kinetik der Gesamtreaktion ist eine Kinetik zweiter Ordnung, obwohl in der Reaktionskette auch eine Reaktion vierter Ordnung enthalten ist.

Richtige Antworten: 1. B

2. B

Fragen:

Die Massenwirkungskonstante sagt nur etwas über die Gleichgewichtslage einer Reaktion aus, aber nichts über die Geschwindigkeit, mit der diese Gleichgewichtslage erreicht wird,

denn

die effektive Bildungsgeschwindigkeit einer Substanz ergibt sich aus der Differenz der Hin- und Rück-Reaktionsgeschwindigkeiten.

	Aussage 1	Aussage 2	Verknüpfung
A.	richtig	richtig	richtig
B.	richtig	richtig	falsch
C.	richtig	falsch	---
D.	falsch	richtig	---
E.	falsch	falsch	---

- - - - -

Welche der folgenden Aussagen ist falsch?

- A. Die Massenwirkungskonstante sagt nichts darüber aus, mit welcher Geschwindigkeit die Gleichgewichtslage einer Reaktion erreicht wird.
- B. Die Geschwindigkeit einer Reaktion ist von Start bis Ende der Reaktion stets konstant.
- C. Die Reaktionsgeschwindigkeit wird allgemein als Änderung der Konzentration von Substrat oder Produkt pro Zeiteinheit definiert: $\frac{c}{t}$.
- D. Nach der Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit v von c und t unterscheidet man verschiedene Reaktionstypen.
- E. Auch die Reaktionsgeschwindigkeit einer Reaktion nullter Ordnung ist temperaturabhängig.

Richtige Antworten:

1. A
2. D
3. B
4. D
5. A

Fragen:

Ordnen Sie die folgenden Aussagen und Gleichungen
einander sinnvoll zu!

1. Reaktionsgeschwindigkeit unabhängig von der Substratkonzentration c
2. Reaktionsgeschwindigkeit abhängig von einer Substratkonzentration c
3. Reaktionsgeschwindigkeit abhängig von zwei

A. $\frac{-dc}{dt} = k_{0.\text{Ordnung}}$

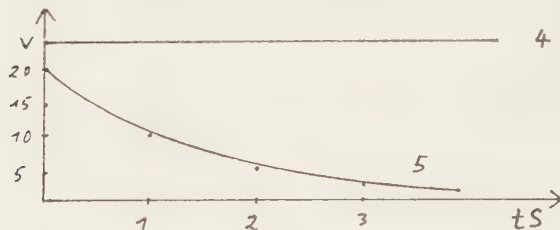
B. $\frac{-dc_1}{dt} \times \frac{-dc_2}{dt} = k_{2.\text{Ordnung}} \times c_1 \times c_2$

C. $\frac{-dc}{dt} = k_{0.\text{Ordnung}} \times c$

D. $\frac{-dc}{dt} = k_{1.\text{Ordnung}} \times c$

E. Keine Zuordnung sinnvoll

Ordnen Sie den folgenden graphischen Darstellungen
von Reaktionsabläufen die zutreffenden Aussagen zu.
Gehen Sie dabei vom geschlossenen System aus!



A. Reaktionsgeschwindigkeit abhängig von einer Substratkonzentration

E. Reaktionsgeschwindigkeit abhängig von zwei Substratkonzentrationen

C. Reaktionsgeschwindigkeit abhängig von dem Quadrat einer Substratkonzentration

D. Reaktionsgeschwindigkeit unabhängig von einer Substratkonzentration

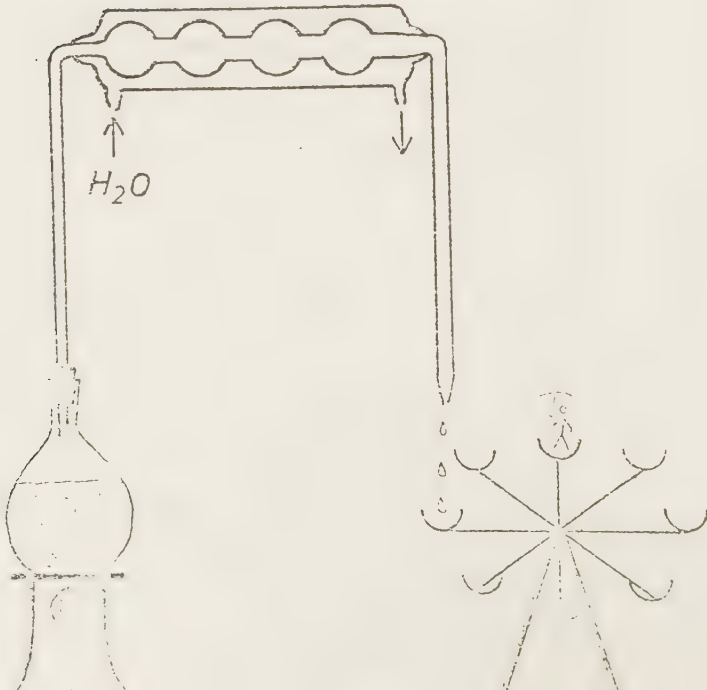
E. Keine Zuordnung sinnvoll

Thermodynamik

Alle Energieformen
sind ineinander umwandelbar.
(1. Hauptsatz der Thermodynamik)

Die Energieumwandlung
ist nicht in allen Fällen vollständig.
(2. Hauptsatz der Thermodynamik)

Thermodynamik ist nicht so einfach
wie unten dargestellt.
(Lebensweisheit)



2.3. Thermodynamik chemischer Reaktionen

In diesem Kapitel werden chemische Reaktionen aus "energetischer Sicht" betrachtet. Dazu ist es notwendig, einige Grundsätze der Thermodynamik zu erläutern und Begriffe wie Enthalpie und Entropie zu erklären. Aus Energietönung und Wärmetönung ergibt sich, wann und warum eine Reaktion ablaufen kann. Über die Thermodynamik kommt man zu den gleichen Aussagen über das Gleichgewicht einer Reaktion wie am Anfang bei den kinetischen Betrachtungen.

THERMONDYNAMISCHE GRUNDSÄTZE

1. Hauptsatz der Thermodynamik:

Alle Energieformen sind
ineinander umwandelbar

2. Hauptsatz der Thermodynamik:

Die Energieumwandlung ist nicht
in allen Fällen vollständig

Freie Energie = freie Enthalpie (Wärmeinhalt)

Nicht umwandelbare Energie = Entropie

Thermodynamische Grundsätze

Der erste Hauptsatz der Thermodynamik besagt, daß prinzipiell alle Energieformen ineinander umwandelbar sind. Das erlaubt uns, die Energieformen inander umzurechnen. Der zweite Hauptsatz schränkt den ersten ein, indem die Energieumwandlung nicht in allen Fällen vollständig ist.

Jede chemische Reaktion ist mit einer Änderung des "Wärmeinhalts" (Enthalpie) der Reaktionspartner verbunden. Wir müssen also zwischen frei umwandelbarer Energie, der "freien Energie" (freie Enthalpie) und nicht umwandelbarer Energie, der Entropie unterscheiden.

ENERGIE, ENTHALPIE und ENTROPIE

$$H = G + T \times S$$

H = Wärmehalt (Enthalpie) eines Systems;

①

Dimension: KJ

G = freie Energie (freie Enthalpie)

T = absolute Temperatur in $^{\circ}\text{K}$

S = Entropie, Maß für die innere Unordnung eines Systems;

Dimension: KJ x Grad $^{-1}$

$$\Delta H = \Delta G + T \times \Delta S$$

②

ΔG° unter Standardbedingungen:

Konzentration 1 Mol/Liter

Druck 1 Bar

Temperatur 298 $^{\circ}\text{K}$

Dimension: KJ x Mol $^{-1}$

frühere Dimension: Kcal x Mol $^{-1}$

Energie, Enthalpie und Entropie

Bei der Berechnung des Wirkungsgrades einer Wärmekraftmaschine ist der in mechanische Arbeit umwandelbare Teil die freie Energie, der Rest die Entropie; siehe Gleichung (1) .

Meist interessieren uns nicht die gesamten Energiebeträge, sondern ihre Änderung (Differenz) nach Ablauf einer Reaktion. Man schreibt deshalb Gleichung (2) .

ΔG bezeichnet den Energieanteil eines Systems, der in eine andere Energieform umwandelbar ist.

ΔG° ist die Änderung der freien Energie eines Systems unter Standardbedingungen: Konzentration 1 Mol/Liter, Druck 1 Bar, Temperatur 298 ° K; die Dimension lautet: $\text{KJ} \times \text{Mol}^{-1}$.

ENERGIETÖNUNG:

$-\Delta G$: exergonische Reaktion

$+\Delta G$: endergonische Reaktion

WÄRMETÖNUNG:

$+\Delta H$: endotherme Reaktion

$-\Delta H$: exotherme Reaktion

Energietönung und Wärmetönung

Die Energieänderung einer Reaktion bezeichnen wir als die Energietönung. Ein negatives Vorzeichen ($-\Delta G$) bedeutet, daß bei der Reaktion Energie freigesetzt wird (exergonische Reaktion); bei Betrachtung des Reaktionssystems von innen bedeutet dieses einen Energieverlust für das System. Bei positivem Vorzeichen ($+\Delta G$) erfordert die Reaktion eine Energiezufuhr von ausserhalb des Systems (endergonische Reaktion).

Entsprechend gilt dies für die Änderung der Enthalpie; diese wird auch als Wärmetönung bezeichnet. Ist die Änderung der Enthalpie positiv ($+\Delta H$), dann sprechen wir von einer endothermen Reaktion; ist sie negativ ($-\Delta H$), dann handelt es sich um eine exotherme Reaktion.

KNALLGASREAKTION



$$\Delta H^\circ = - 68\text{Kcal/Mol} = - 285 \text{ KJ/Mol}$$

$$\Delta G^\circ = - 57\text{Kcal/Mol} = - 239 \text{ KJ/Mol}$$

$$T \times \Delta S = - 11\text{Kcal/Mol} = - 46 \text{ KJ/Mol}$$

Freie Energie - Antrieb der Reaktion

Der Motor einer Reaktion ist die Abgabe von freier Energie. Eine exergonische Reaktion kann (muß aber nicht) freiwillig ablaufen. Ein Beispiel ist die Knallgasreaktion. Die Änderung der Enthalpie beträgt - 66 Kcal/Mol. Die Änderung der freien Energie beträgt - 57 Kcal/Mol. Der Entropieanteil ist $T \times \Delta S = - 11 \text{ Kcal/Mol}$. Freiwillig läuft diese Reaktion nur in Richtung der Bildung von Wasser.

Wollten wir Wasser zersetzen, also die umgekehrte Reaktionsrichtung einschlagen, müßten wir Energie in das System hineinstecken. Ein Beispiel ist der Hoffmann'sche Wasserzersetzungssapparat, der elektrolytisch eine Umkehr der Knallgasreaktion ermöglicht. Die Energie wird hier in Form von elektrischer Energie hineingegeben.

*Die freie Energie
ist das Maß für
nutzbringende Arbeit*

Die freie Energie einer chemischen Reaktion ist für biologische Reaktionsabläufe von besonderer Bedeutung, weil sie ein Maß für den Anteil der Energie ist, der während des Stoffumsatzes als nutzbringende Arbeit gewonnen werden kann; ausserdem macht sie eine quantitative Aussage über die potentielle Bereitschaft einer Substanz zur physikalischen Umwandlung.

Die Änderung der Enthalpie und der freien Energie müssen nicht das gleiche Vorzeichen haben. Ein Beispiel ist die Verdunstung des Äthers. Hierbei ist die Änderung der Enthalpie positiv, es wird Wärme aus der Umgebung aufgenommen. Die Reaktion läuft aber dennoch ab, weil die Änderung der freien Energie negativ ist und die Entropieänderung ein positives Vorzeichen hat. Die Zunahme der Entropie bewirkt also hier die Reaktion. Im Kühlschrank wird dieses Prinzip ausgenutzt.

Zusammenhang zwischen
freier Energie einer Reaktion
und
Massenwirkungsgesetz

$$-\Delta G^{\circ} = R \times T \times \ln K$$

(1)

$-\Delta G^{\circ}$ = Änderung der Standardenergie

R = allgemeine Gaskonstante

T = absolute Temperatur

$\ln K$ = natürlicher Logarithmus der
Gleichgewichtskonstanten

$$G = G^{\circ} + R \times T \times \ln x \frac{[C] \times [D]}{[A] \times [B]}$$

(2)

Kinetische und energetische Zusammenhänge

Zwischen der freien Energie und der Gleichgewichtskonstanten (MWG) besteht folgender Zusammenhang: Gleichung (1). Die Änderung der Standardenergie ist die Änderung der freien Energie, wenn alle Reaktionspartner in einmolarer Konzentration vorliegen und die Reaktion bis zum Gleichgewicht läuft.

Zwischen der freien Energie in einem beliebigen Punkt und der Standardenergie besteht bei verschiedenen Konzentrationen der Reaktionsteilnehmer der zahlenmäßige Zusammenhang der Gleichung (2).

Wenn das Gleichgewicht erreicht ist, dann ist $\Delta G = 0$, die Reaktion kann also nicht über den Gleichgewichtspunkt hinweglaufen.

REAKTIONSKOPPLUNG

exergonische Reaktion ($-\Delta G$)

läßt

endergonische Reaktion ($+\Delta G$)

ablaufen.

Die kinetischen und die energetischen Betrachtungen von chemischen Reaktionen führen zu dem gleichen Ergebnis. Unter physiologischen Bedingungen weichen die Konzentrationen der Reaktionspartner stark von den Konzentrationen unter Standardbedingungen ab. Daher stimmen die Energiebeträge auch nicht mit den Standardenergiebeträgen überein.

Im biologischen Bereich wird häufig die Möglichkeit der Reaktionskopplung ausgenutzt. Eine Reaktion mit positivem ΔG (z.B. eine Synthesereaktion) wird gekoppelt mit einer Reaktion mit negativem ΔG . Der Energiegewinn der einen Reaktion läßt die andere Reaktion ablaufen. Die gesamte Energietönung beider Reaktionen muß jedoch negativ sein, da sie sonst nicht ablaufen können.

Richtige Antworten: 1. C

2. B

Fragen:

1. Welche Aussage ist falsch?

- A. Prinzipiell sind nach dem ersten Hauptsatz der Thermodynamik alle Energieformen ineinander umwandelbar.
- B. Nach dem 2. Hauptsatz der Thermodynamik ist die Energieumwandlung nicht in allen Fällen vollständig möglich.
- C. Jede chemische Reaktion ist mit einer Änderung des Wärmeinhalts = Entropie der Reaktionspartner verbunden.
- D. Der nicht umwandelbare Energieanteil einer Reaktion wird als Entropie bezeichnet.
- E. Die freie Energie einer Reaktion wird auch als freie Enthalpie bezeichnet.

2. Welche Aussage ist falsch?

- A. Eine negative Energietönung ($-\Delta G$) bedeutet, daß bei der Reaktion Energie freigesetzt wird.
- B. Eine exergonische Reaktion hat ein positives Vorzeichen der Energietönung ($+\Delta G$).
- C. Endergonische Reaktionen erfordern die Zufuhr von freier Energie
- D. Die Änderung der Enthalpie wird als Wärmetönung bezeichnet.
- E. Ist die Änderung der Enthalpie positiv, spricht man von einer endothermen Reaktion.

Richtige Antwort: D

Frage:

Welche der folgenden Antwortkombinationen A-E ist richtig?

1. Zwischen der freien Energie und der Gleichgewichtskonstanten besteht der folgende rechnerische Zusammenhang: $\Delta G^0 = R \times T \times \ln K$.
2. Wenn das Gleichgewicht einer Reaktion erreicht ist, dann gilt: $\Delta G = 0$.
3. Eine exergonische Reaktion kann freiwillig ablaufen.
4. Eine Reaktion kann nicht über den Gleichgewichtspunkt hinweglaufen.
5. Im biologischen Bereich wird häufig eine exergonische Reaktion mit einer endergonischen Reaktion gekoppelt.

- A. Aussagen 1, 2 und 5 sind richtig
- B. Aussagen 1, 3, 4 und 5 sind richtig
- C. Aussagen 2, 3 und 5 sind richtig
- D. Alle Aussagen 1 - 5 sind richtig
- E. Keine der Aussagen 1-5 ist richtig

Katalysatoren

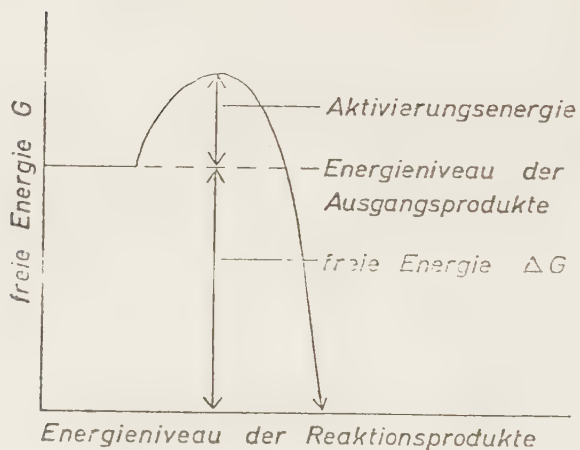
beschleunigen die Reaktion

3. Katalyse chemischer Reaktionen

Für Reaktionen ablaufen können, müssen sie mit einer bestimmten Energiemenge, der Aktivierungsenergie aktiviert werden.

Katalysatoren sind eine Hilfe, Aktivierungsenergie zu sparen; dadurch beschleunigen sie die Einstellung des Reaktionsgleichgewichts.

Energiebilanz ohne Katalysator



Aufnahme und Abgabe von Energie

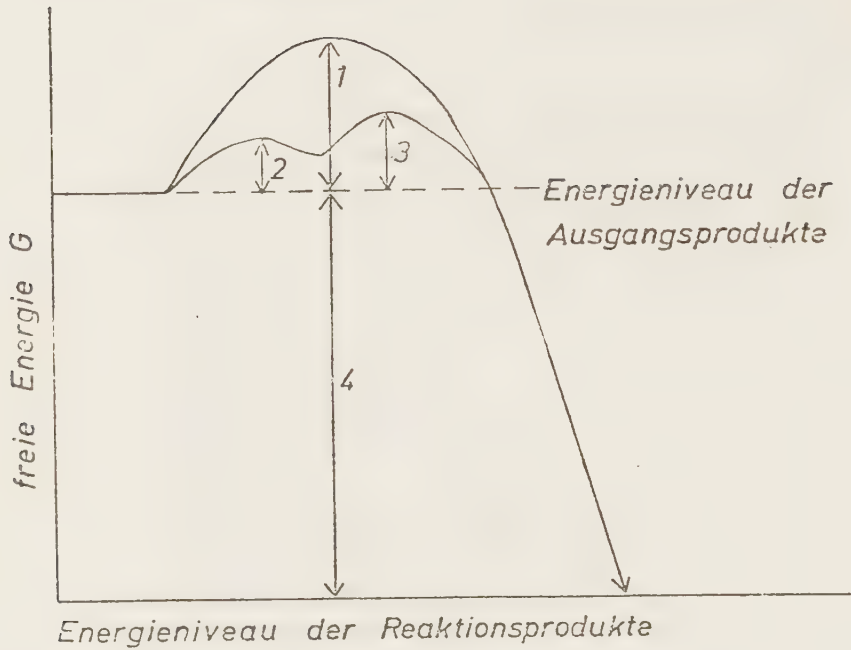


3.1. Aktivierungsenergie

Wenn der Gleichgewichtszustand jederzeit schnell erreicht würde, gäbe es kein biologisches Leben. Aus den thermodynamischen Berechnungen wissen wir, ob eine Reaktion ablaufen kann. Sie sagen jedoch nichts darüber aus, ob eine Reaktion auch unter den gegebenen Umständen abläuft. In Gegenwart des Luftsauerstoffs liegt für die meisten organischen Verbindungen das Gleichgewicht einer Reaktion mit diesem auf Seiten der Bildung von CO_2 und H_2O . Bei Zimmertemperatur sind sie metastabil; d.h. die Stoffe werden nicht verändert, obwohl sie sich nicht im Gleichgewicht befinden. Erst nach Zufuhr eines gewissen Energiebetrags, der Aktivierungsenergie, können sie mit Luftsauerstoff reagieren.

Ein Beispiel ist die Verbrennung von Holz. Wenn wir nur wenige Moleküle aktivieren (das Stück Holz an einer Ecke anzünden), kann die Reaktion bis zum Gleichgewicht ablaufen (kann das Stück Holz ganz verbrennen).

In der graphischen Darstellung eines Reaktionsablaufes liegt ein Berg vor der eigentlichen Reaktion, die mit einem Energieabfall verbunden ist. Dieser Berg muß mit Hilfe von Energieaufnahme überwunden werden.



- 1 = Aktivierungsenergie für die nichtenzymatische Reaktion
- 2 = Aktivierungsenergie für die Bildung des
Enzym-Substrat-Komplexes
- 3 = Aktivierungsenergie für die enzymkatalysierte Reaktion
- 4 = Nettobetrag der Änderung der freien Energie

Es gibt einen Weg, die Aktivierungsenergie herabzusetzen, damit der Berg nicht mehr so hoch ist: der Zusatz eines Katalysators. Im Bereich biologischer Reaktionen dienen als Katalysatoren die Enzyme. Es ist kaum eine Reaktion im Organismus bekannt, die ohne Enzyme abläuft. Eine Ausnahme bilden die Spontandecarboxylierungen von beta-Ketosäuren. Die Enzyme gehören in die Stoffklasse der Proteine.

E N Z Y M kann:

Aktivierungsenergie herabsetzen

Reaktionsgeschwindigkeit erhöhen

E N Z Y M kann n i c h t :

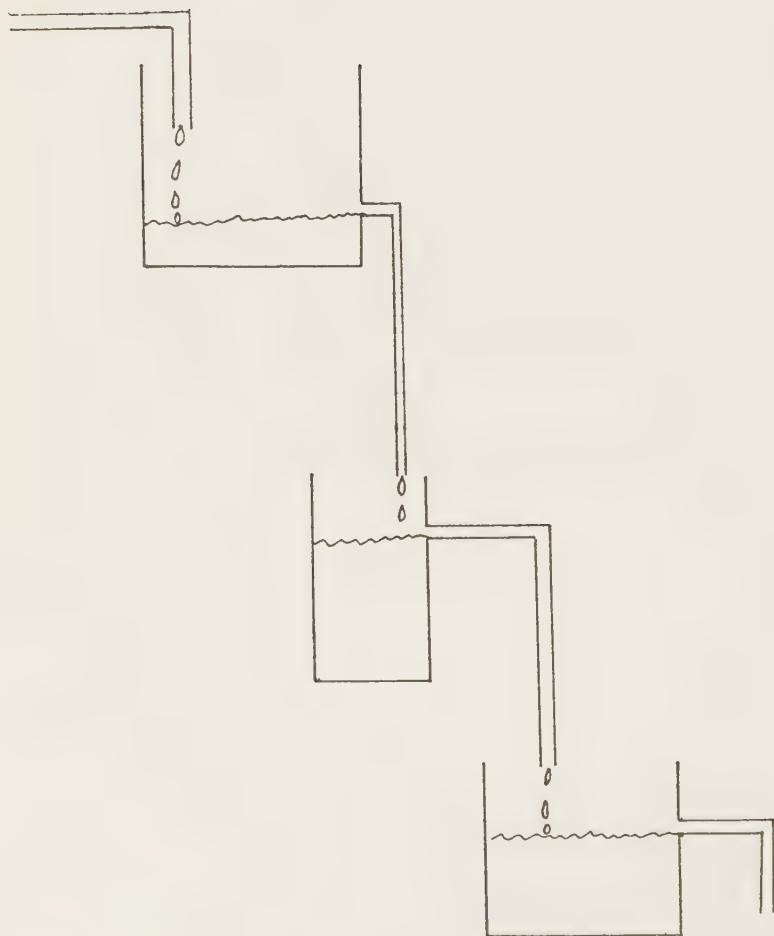
Gleichgewicht verschieben

3.2. Aufgabe des Katalysators.

Der Katalysator hat die Aufgabe, die Aktivierungsenergie herabzusetzen und damit die Gleichgewichtseinstellung zu beschleunigen. Da die Gleichgewichtskonstante eine Konstante für die jeweilige chemische Reaktion ist, können die Enzyme oder sonstige Katalysatoren eine Reaktion nicht über den Gleichgewichtszustand hinaus verschieben. Eine Veränderung des Gleichgewichts ist also nicht möglich. Das Enzym kann die Einstellung der Gleichgewichtslage nur beschleunigen, was einer Erhöhung der Reaktionsgeschwindigkeit gleichkommt.

Eine Möglichkeit zur Weiterreaktion eröffnet sich, wenn eine zweite enzymatische Reaktion den Stoff laufend verbraucht, der in der ersten Reaktion produziert wird. Auch hier wird das Gleichgewicht nicht verschoben; die Gleichgewichtskonzentration wird nur deshalb nicht erreicht, weil ein Reaktionsprodukt weiter reagiert, somit laufend verschwindet und durch die erste Reaktion nachgeliefert werden muß. Die energetischen Voraussetzungen hierfür sind schon erörtert worden.

FLIESSGLEICHGEWICHT



3.3. Fließgleichgewicht

In dem folgenden Abschnitt wird dargestellt, mit welchen Faktoren ein Fließgleichgewicht hergestellt und aufrecht erhalten werden kann. Zum Wesen des Fließgleichgewichts gehören aktive Transportvorgänge und hintereinander geschaltete Reaktionsketten.

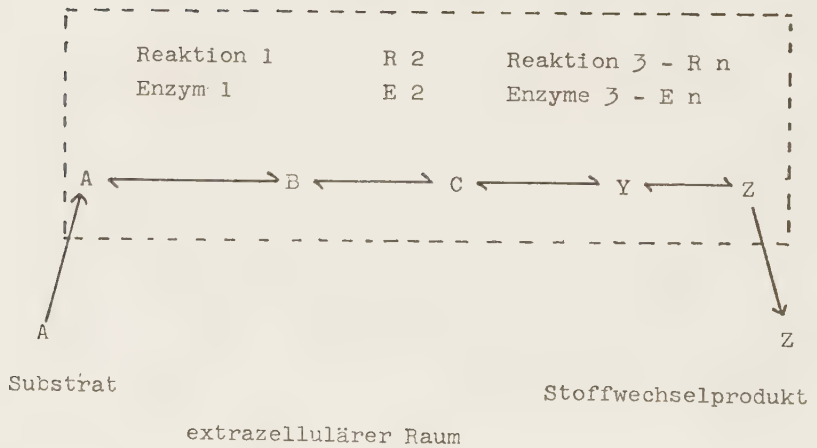
Das Fließgleichgewicht erreicht nicht
den Endzustand einer Reaktion -
das Gleichgewicht

Transportvorgänge bestimmen die
Konzentration der Reaktionspartner

Da in einer chemischen Gleichgewichtslage kein Energieaustausch stattfindet, ist ein derartiges Gleichgewicht arbeitsunfähig. Damit also ein System Arbeit leisten kann, darf es sich nicht im Gleichgewicht befinden, sondern muß auf ein solches hinstreben. Wenn die Einstellung des Gleichgewichts dauernd vermieden wird, sprechen wir von einem Fließgleichgewicht, englisch steady state.

Unter Fließgleichgewicht versteht man einen quasistationären Zustand, bei dem dauernd Substanzen einströmen und Reaktionsprodukte herausgeschleust werden. Zum Wesen eines Fließgleichgewichts gehören Transportvorgänge an den Grenzen des Systems, z.B. an der Membran der Zelle. Neben anderen Reaktionsbedingungen bestimmen sie die stationären Konzentrationen (d.h. die Fließgleichgewichtskonzentrationen) der einzelnen Stoffe. Im Organismus werden diese Bedingungen erfüllt: Nahrung und O_2 werden aufgenommen, CO_2 und Ausscheidungsprodukte werden abgegeben.

Schema der Zelle als Fließgleichgewichts-System



Neben den Transportvorgängen wird auch durch Reaktionsketten und Reaktionszyklen das Fließgleichgewicht aufrecht erhalten. Ist die Zufuhr des Substrates A in der Zeiteinheit konstant und wird das letzte Reaktionsprodukt als Endprodukt des Stoffwechsels (Z) laufend entfernt, so stellt sich eine von der Aktivität der Enzyme abhängige Konzentration der Zwischenprodukte (B - Y) ein, die für die jeweilige Stoffwechsellage charakteristisch ist. Ein Beispiel ist die Atmungskette, die ein Fließgleichgewicht für sich darstellt.

BIOLOGISCHE HALBWERTSZEIT

Maß für die Synthese oder
Abbaugeschwindigkeit einer
Substanz

Die große Anpassungsfähigkeit des Fließgleichgewichts im Organismus zeigt sich schon darin, daß die Konstanz des Organismus trotz starker Schwankungen der Umweltbedingungen weitgehend gewahrt wird.

Als biologische Halbwertszeit wird diejenige Zeit bezeichnet, in der von einer bestimmten Substanz im Stoffwechsel die Hälfte umgesetzt, abgebaut, ausgeschieden oder durch Neusynthese ersetzt wird. Die biologische Halbwertszeit ist somit ein Maß für den Umsatz eines Stoffes in einem Organismus oder einem seiner Teile. Die biologische Halbwertszeit ist oft durch radioaktive Markierung von Substanzen zu bestimmen. Die biologische Halbwertszeit darf jedoch nicht mit der radioaktiven Halbwertszeit verwechselt werden.

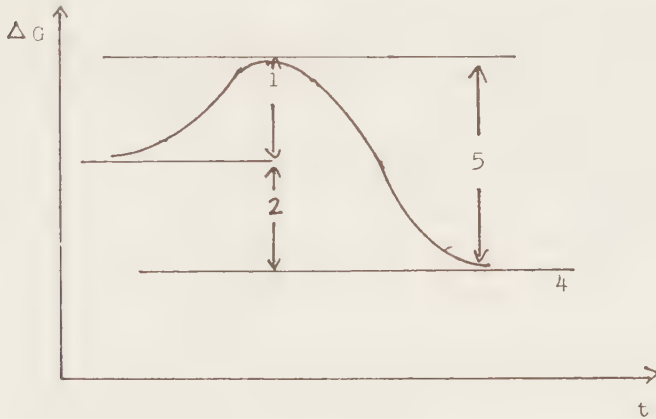
Aus der Kenntnis des Fließgleichgewichtes sind Aussagen über die quasistationären Konzentrationen der beteiligten Stoffe möglich; mit Hilfe der Halbwertszeiten sind Rückschlüsse auf die Umsatzgeschwindigkeiten möglich.

Richtige Zuordnung:

1. D
2. C
3. B
4. A
5. E

Frage:

Ordnen Sie den Zahlen der Zeichnung die richtigen Buchstaben der Zeichenerklärung zu!



- A. Energieniveau der Reaktionsprodukte
- B. Energieniveau der Ausgangssubstrate
- C. Änderung der freien Energie
- D. Aktivierungsenergie
- E. keine sinnvolle Zuordnung möglich

Richtige Antworten: 1. B

2. C

Fragen:

1. Viele organische Verbindungen sind bei Zimmer-
temperatur nur beschränkt haltbar,

denn

die Oxidation organischer Verbindungen zu CO_2 , H_2O
und anderen Oxidationsprodukten ist in der Regel
exergonisch.

	<u>Aussage 1</u>	<u>Aussage 2</u>	<u>Verknüpfung</u>
A.	richtig	richtig	richtig
B.	richtig	richtig	falsch
C.	richtig	falsch	---
D.	falsch	richtig	---
E.	falsch	falsch	---

- 2. Welche Aussage ist falsch?

- A. Ein Katalysator setzt die Aktivierungsenergie
einer Reaktion herab
B. Für biologische Reaktionen dienen als Katalysatoren
in der Regel Enzyme
C. Es gibt keine Reaktion im Organismus, die ohne
Enzyme ablaufen kann
D. Die Enzyme gehören zur Stoffklasse der Proteine
E. Mit Hilfe von Enzymen wird die Reaktionsge-
schwindigkeit erhöht.

Richtige Antworten: 1. E

2. D

- 2 -

Fragen:

1. Enzyme können die Einstellung einer Reaktion
über den Gleichgewichtszustand hinaus verschieben,

denn

die Gleichgewichtskonstante gilt nicht für
enzymatische Reaktionen

	<u>Aussage 1</u>	<u>Aussage 2</u>	<u>Verknüpfung</u>
A.	richtig	richtig	richtig
B.	richtig	richtig	falsch
C.	richtig	falsch	---
D.	falsch	richtig	---
E.	falsch	falsch	---

-
2. Welche der folgenden Ergänzungen trifft zu?

- Da die Gleichgewichtskonstante eine Konstante
für die jeweilige chemische Reaktion ist,
- A. setzen Katalysatoren die Aktivierungsenergie
herab.
 - B. wird das Gleichgewicht enzymatischer Reaktionen
gegenüber nichtenzymatischen Reaktionen ver-
schoben.
 - C. muß das Gleichgewicht durch Enzyme verschoben
werden, damit eine Weiterreaktion möglich ist
 - D. können Enzyme die Einstellung einer Reaktion
nicht über den Gleichgewichtszustand hinaus
verschieben.
 - E. muß zumindestens jeweils ein Reaktionspartner
vollständig umgesetzt werden.

Richtige Antwort: D

Frage:

Welche der folgenden Aussagen über das Fließgleichgewicht ist falsch?

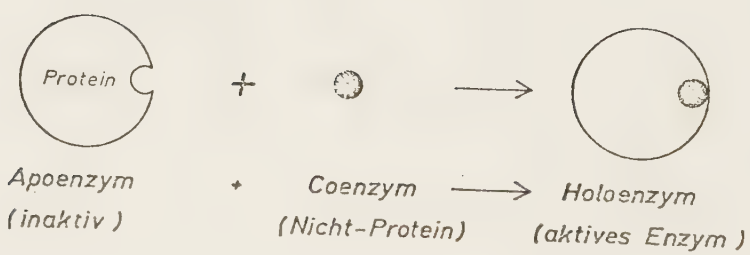
- A. Damit ein System arbeiten kann, darf es sich nicht im Gleichgewicht befinden.
- B. Im Fließgleichgewicht herrscht ein scheinbar stationärer Zustand, der durch Zu- und Abstrom von Verbindungen aufrechterhalten wird.
- C. Durch dauernden Zu- und Abstrom von Verbindungen wird in einem Fließgleichgewicht verhindert, daß sich bei einzelnen Reaktionen das Gleichgewicht nach dem Massenwirkungsgesetz einstellen kann.
- D. Die Einstellung eines Fließgleichgewicht hängt nur von den Energiebeträgen der Teilreaktionen des Systems ab.
- E. Die Stoffwechsellage kann sich durch bestimmte Fließgleichgewichte ausdrücken, wobei die charakteristischen Konzentrationen von Zwischenprodukten durch die Aktivität von Enzymen bedingt werden.

Natur der Enzyme:

PROTEIN

4. Natur der Enzyme

Die Enzyme gehören zu den Proteinen; sie haben ein "aktives Zentrum" und können mit Coenzymen zusammenarbeiten. Dadurch kann die Wahl des Reaktionspartners und die Art der Reaktion variiert werden. Es wird dargestellt, wie sich das Enzym mit einem Substrat verbindet, um ein Reaktionsprodukt zu bilden.



4.1. Aufbau der Enzyme

Die Enzyme sind Proteine. Ihre katalytische Aktivität ist nicht an die intakte Zelle gebunden. Es ist bei vielen Enzymen möglich, sie ohne Verlust ihrer biologischen Aktivität aus der Zelle zu extrahieren und als kristallisierbare Proteine zu erhalten. Somit kann ihre Wirkung in vitro studiert werden.

Der Teil eines Enzymmoleküls, der für die Wirkung direkt verantwortlich ist, wird "aktives Zentrum" genannt. An einem Enzymmolekül können mehrere aktive Zentren vorhanden sein.

Der aktive Bezirk bindet ein oder mehrere Substrate und - sofern beteiligt - ein oder mehrere Coenzyme. Die Coenzyme sind keine Proteine - viele leiten sich von wasserlöslichen Vitaminen ab. Das allein nicht wirksame Enzym (Apoenzym) und das Coenzym bilden zusammen das aktive Enzym (Holoenzym). Die Verbindung von Coenzym und Apoenzym erfolgt meist reversibel.

Wirkungsspezifität

Verschiedene Enzyme konkurrieren um ein Substrat

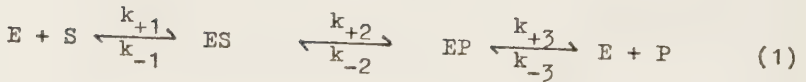
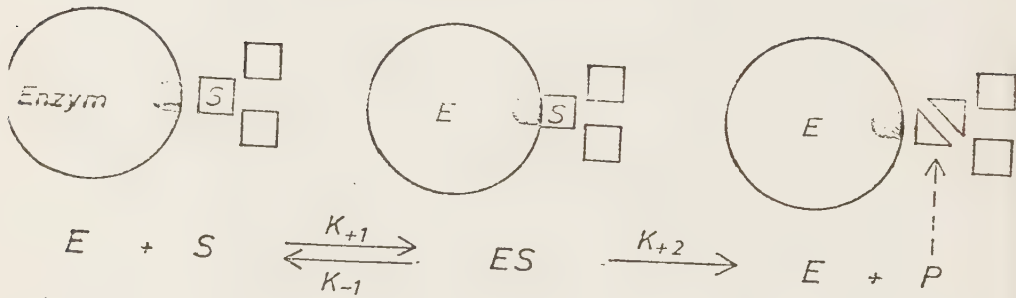
Substrat	Enzym	Reaktionsprodukt	Reaktionstyp
Glucose-6-phosphat	Phosphoglucomutase	Glucose-1-phosphat	Umesterung
	Glucose-6-phosphat-Isomerase	Fructose-6-phosphat	Isomerisierung
	Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase	Gluconlacton-6-phosphat	Oxydation
	Glucose-6-phosphat-Phosphatase	Glucose + Phosphat	Hydrolyse

Die Substratspezifität eines Enzyms wird durch das aktive Zentrum festgelegt. Chemische und physikalische Eigenschaften des aktiven Zentrums bestimmen, welches Substrat gebunden werden kann.

Durch die Bindung eines Coenzyms kann die Wirkungsspezifität eines Enzyms angezeigt werden. Die meisten Coenzyme sind jeweils nur an einem Reaktionstyp beteiligt, nicht dagegen die Substrate.

Glucose-6-phosphat zum Beispiel kann organabhängig durch verschiedene Enzyme umgesetzt werden. Jede Reaktion in der gezeigten Tabelle wird durch ein Enzym katalysiert. Das an der Oxidation von Glucose-6-phosphat zu Gluconsäurelacton-6-phosphat beteiligte Coenzym ist praktisch ein zweites Substrat. Die Konkurrenz mehrerer Enzyme um ein Substrat kann zur Stoffwechselregulation herangezogen werden, indem durch Änderung der einzelnen Enzymaktivitäten die Richtung von Stoffumwandlungen gelenkt wird.

Wirkungsweise der Enzyme



E = Enzym

S = Substrat

P = Produkt

4.2. Arbeitsweise von Enzymen

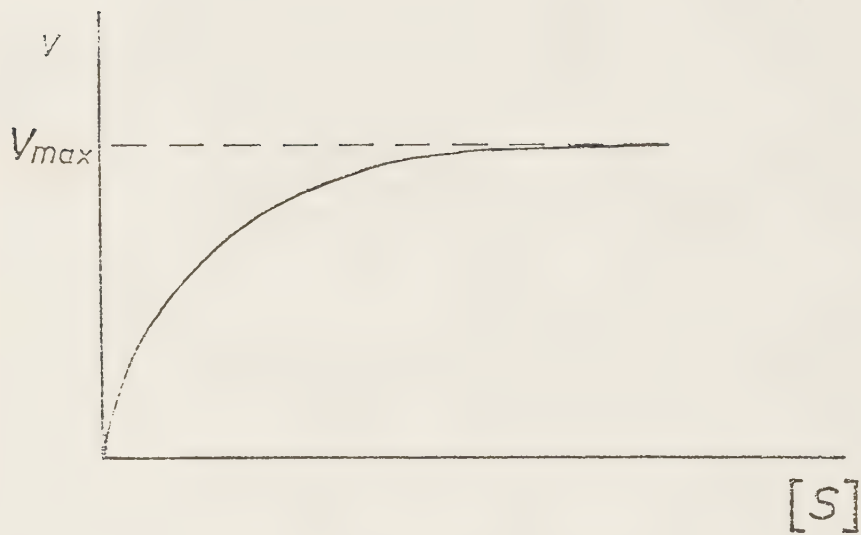
Die Wirkungsweise von Enzymen besteht im wesentlichen darin, daß ein sehr reaktionsfähiger, aber kurzlebiger Enzym-Substrat-Komplex gebildet wird. In dieser Verbindung befindet sich das Substrat in aktiviertem Zustand. Jetzt bedarf es beispielsweise einer Ladungs- oder Elektronenverschiebung, um eine bestimmte Reaktion einzuleiten. Nach beendeter Umsetzung werden die gebildeten Produkte abgelöst, und das aktive Zentrum ist für die nächste Reaktion wieder frei.

Dieser Kreisprozeß läuft mit sehr hoher Geschwindigkeit ab. Je nach Enzym können zwischen 10^2 und 10^7 Substratmoleküle pro Minute und aktives Zentrum umgesetzt werden.

Nach dieser Theorie können wir eine enzymatische Reaktion formulieren wie in Gleichung (1).

Die Umwandlung $ES \rightarrow EP$ erfolgt mit sehr viel höherer Geschwindigkeit als alle anderen Reaktionen. Zu Beginn der Reaktion ist die Konzentration des Produktes P noch sehr gering. Daher läßt sich unter Vernachlässigung der Rückreaktion $E + P \rightarrow EP$ der Ausdruck vereinfachen: Gleichung (2).

Die Reaktion $ES \rightarrow E + P$ verläuft wesentlich langsamer als die Reaktion $E + S \rightarrow ES$ und wird damit geschwindigkeitsbestimmend für den Ablauf der Gesamtreaktion.



4.3. Theorie von Michaelis und Menten

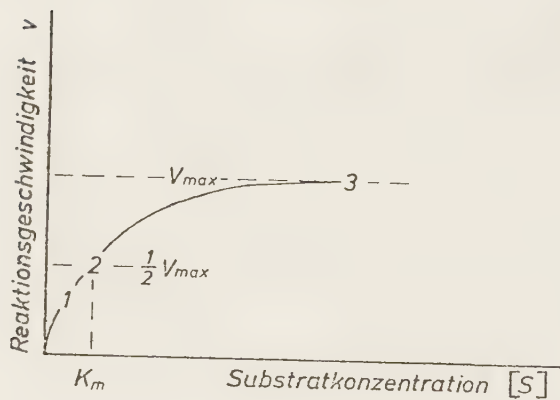
Um mit den Enzymen untereinander vergleichbare Versuche durchführen zu können, braucht man rechnerische und graphische Arbeitsunterlagen. Die Michaelis-Konstante ist eine wichtige Kenngrösse für enzymatische Reaktionen.

Voraussetzungen für Berechnungen nach der Theorie von Michaelis und Menten sind:

- Die Enzymkonzentration ist sehr klein im Verhältnis zur Substratkonzentration.
- Geschwindigkeitslimitierend für die Gesamt-Reaktion ist der Zerfall des Enzym-Substrat-Komplexes ES nach $E + P$ über eine Umwandlung $ES \xrightarrow{\quad} EP$.
- Die Umwandlung von ES nach EP erfolgt mit sehr hoher Geschwindigkeit.

Wenn wir unter diesen Voraussetzungen und standardisierten Aktivierungsbedingungen die Reaktionsgeschwindigkeit einer enzymatischen Reaktion in Abhängigkeit von der Substratreaktion auftragen, erhalten wir die nebenstehende Darstellung.

Reaktionsgeschwindigkeit in Abhängigkeit
von der Substratsättigung



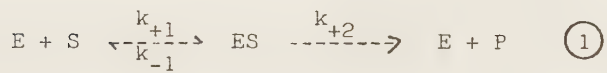
Bei steigender Substratkonzentration nimmt die Geschwindigkeit einer enzymatischen Reaktion bis zu einem Maximalwert zu, der auch bei weiterer Substratzugabe nicht erhöht werden kann. Wird in der graphischen Darstellung die Reaktionsgeschwindigkeit in Abhängigkeit von der Substratkonzentration aufgetragen, erhält man eine Sättigungskurve.

Bei geringer Substratkonzentration - Punkt (1) - liegt vorwiegend freies Enzym und nur wenig ES vor ($E > ES$). Die Reaktionsgeschwindigkeit ist klein.

Bei steigender Substratkonzentration - Punkt (2) - erhöht sich die Wahrscheinlichkeit eines Zusammenstoßes von E und S und damit die Geschwindigkeit. Liegt die Hälfte des Enzyms in freier Form und die andere Hälfte als ES vor, so entspricht die hierzu benötigte Substratkonzentration einer Halbsättigung des Enzyms ($E = ES$). Die halbmaximale Reaktionsgeschwindigkeit ist erreicht.

Bei hoher Substratkonzentration - Punkt (3) - liegt praktisch alles Enzym als ES vor. Es herrscht Substratsättigung und maximale Reaktionsgeschwindigkeit. Da praktisch kein freies Enzym mehr vorliegt, kann weitere Substratzugabe die Reaktionsgeschwindigkeit nicht mehr erhöhen.

Reaktionsgeschwindigkeit in Abhängigkeit
von der Enzym-Menge



$$v = k_{+2} \times [ES] \quad (2)$$

$$v = k_{+2} \times [E_t] \quad (3)$$

$$[E_t] = [E] + [ES]$$

Nach der Gleichung (1) ist die resultierende Geschwindigkeit einer enzymatischen Reaktion proportional der Konzentration von ES; Gleichung (2) .

Da bei Substratsättigung das Enzym als ES vorliegt, hängt die maximale Reaktionsgeschwindigkeit von der Gesamtmenge des Enzyms ab; Gleichung (3) .

Die maximale Reaktionsgeschwindigkeit und die hierfür benötigte Substratkonzentration sind oft nicht genau zu bestimmen. Zum Beispiel ist die für die maximale Reaktionsgeschwindigkeit notwendige Substratmenge oft nicht löslich. Deshalb wird als Kenngröße die Michaelis-Konstante angegeben. Das ist diejenige Substratkonzentration, die zur Halbsättigung des Enzyms und damit zum Erreichen der halben maximalen Geschwindigkeit benötigt wird. Diese Michaelis-Konstante K_m kann graphisch ermittelt werden (Punkt (2) der Abbildung).

Berechnung der Michaelis-Konstanten

$$\frac{[E] \times [S]}{[ES]} = K \quad (4)$$

$$[S]_{V/2} = K_m \quad (5)$$

Enzym und Substrat verbinden sich zu einem Enzym-Substrat-Komplex; für die Zerfallsreaktion, also die Umkehrreaktion können wir das Massenwirkungsgesetz wie in Gleichung (4) formulieren. Die Konstante ist damit eine Stabilitäts- oder Zerfalls-Konstante.

Bei halbmaximaler Reaktionsgeschwindigkeit sind die Konzentrationen von freiem Enzym und Enzym-Substrat-Komplex gleich groß; durch entsprechende Kürzung kommen wir zu Gleichung (5).

Die Michaelis-Konstante ergibt sich somit als die zur Erreichung einer halbmaximalen Reaktionsgeschwindigkeit notwendige Substratkonzentration.

Eine weitere Ableitung der Michaelis-Konstanten ergibt sich, wenn man die Enzymreaktion im Zustand eines Fließgleichgewichtes betrachtet und dabei von folgenden Annahmen ausgeht:

- Der Enzym-Substrat-Komplex zerfällt einerseits in E und S (k_{-1}), andererseits in E und P (k_{+2}). Bildungs- und Zerfallsgeschwindigkeit des Enzym-Substrat-Komplexes sind gleich.
- Die Konzentration des Enzym-Substrat-Komplexes bleibt im Zustand des Fließgleichgewichtes konstant.
- Die Geschwindigkeitskonstante für die Reaktion $E + P \rightarrow ES$ ist vernachlässigbar klein ($k_{-2} = 0$) und bleibt unberücksichtigt.

$$\frac{d [ES]}{dt} = k_{+1} ([E_t] - [ES]) \times [S] \quad (6)$$

$$\frac{d [ES]}{dt} = k_{-1} [ES] + k_{+2} [ES] \quad (7)$$

$$\frac{([E_t] - [ES]) \times [S]}{[ES]} = \frac{k_{-1} + k_{+2}}{k_{+1}} = K_m \quad (8)$$

$$[ES] = \frac{[E_t] \times [S]}{K_m + S} \quad (9)$$

$$[E_t] = [E] + [ES]$$

Unter diesen Voraussetzungen kann man für die Bildungsgeschwindigkeit die Gleichung (6) formulieren. Die Gesamtmenge an freiem und gebundenem Enzym wird hier als E_t bezeichnet.

Für die Zerfallsgeschwindigkeit gilt die Gleichung (7).

Bei gleicher Bildungs- und Zerfallsgeschwindigkeit von ES im Zustand des Fließgleichgewichtes folgt daraus Gleichung (8). Diese kann nach [ES] aufgelöst werden, wodurch wir zur Gleichung (9) kommen.

$$v = k_{+2} \times [E_t] \quad (2)$$

$$v = \frac{[E_t] \times k_{+2} [S]}{K_m + [S]} \quad (10)$$

$$v = \frac{V \times [S]}{K_m + S} \quad (11)$$

$$\frac{1}{v} = \frac{K_m}{V} \times \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V} \quad (12)$$

$$y = a \times X \div b \quad (13)$$

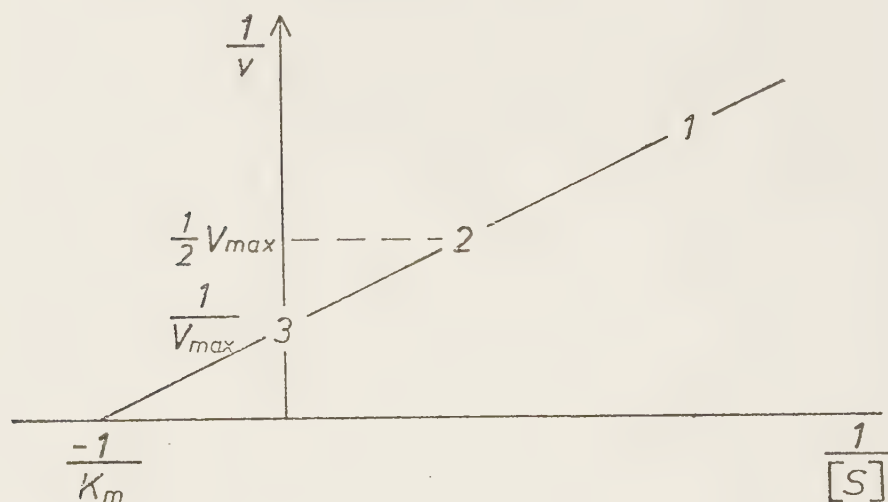
4.4. Darstellung nach Lineweaver-Burk

Setzt man den gefundenen Wert von ES in die Gleichung (2) ein, dann ergibt sich Gleichung (10) .

Da nach Gleichung (3) $[E_t] \times k_{+2} = v$ gilt, können wir umformulieren nach Gleichung (11) . Der reziproke Ausdruck hierfür ist die Gleichung (12) .

Dies entspricht der allgemeinen Gleichung (13) einer Geraden mit der Steigung a und dem Ordinatenabschnitt b (für $x = 0$). Hiermit haben wir eine lineare Beziehung zwischen den reziproken Werten der Reaktionsgeschwindigkeit v und der Substratkonzentration S .

Doppelt reziproke Darstellung
nach Lineweaver – Burk



Tragen wir die so gefundene Funktion graphisch auf, dann kommen wir zur Darstellung nach Lineweaver-Burk. Diese Darstellung kann leichter ausgewertet werden - Interpolation/Extrapolation -, da man hier keine gekrümmte Kurve, sondern eine Gerade erhält.

K_m - hier zu entnehmen als positiv oder negativ reziproker Wert ist als Konstante unabhängig von der Substratkonzentration; aus ihr kann die relative Größe von v für jede Substratkonzentration bestimmt werden. Sie ist ein Maß für die Affinität des Enzyms zum Substrat und hat die Dimension Mol/Liter. Mit steigendem K_m sinkt die Affinität des Enzyms zum Substrat; K_m ist also umgekehrt proportional zur Affinität. Hoher K_m -Wert bedeutet, daß eine hohe Substratkonzentration notwendig ist, um die Hälfte des Enzyms mit Substrat zu sättigen.

Im Bereich von Punkt (1) der Geraden werden die meisten Meßpunkte aufgenommen. Das Lot von Punkt (2) ergibt als Abszissenabschnitt den reziproken Wert der Michaelis-Konstanten. Punkt (3) ergibt sich durch graphische und/oder rechnerische Extrapolation. Da hier der reziproke Wert der Substratkonzentration Null ist, müsste die Substratkonzentration unendlich groß sein.

Richtige Antworten: 1. C

2. D

Fragen:

1. Welche der folgenden Antworten A-E zu den Aussagen 1 - 5 trifft zu?

1. Die Enzyme sind Proteine
2. Die katalytische Aktivität der Enzyme ist an die intakte Zelle gebunden
3. An einem Enzymmolekül kann nur ein "aktives Zentrum" vorhanden sein.
4. Coenzym und das allein nicht wirksame Apeoenzym verbinden sich zum aktiven Holoenzym
5. Durch Konkurrenz mehrerer Enzyme um ein Substrat und Affinitätsänderungen dieser Enzyme können Stoffumsetzungen in bestimmte Richtungen gelenkt werden.

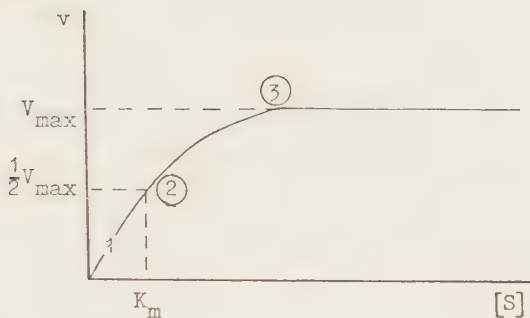
- A. Die Aussagen 1, 2 und 4 sind falsch
- B. Die Aussagen 2, 3 und 5 sind falsch
- C. Die Aussagen 2 und 3 sind falsch
- D. Alle Aussagen 1 - 5 sind falsch
- E. Alle Aussagen 1 - 5 sind richtig

2. Welche Aussage ist falsch?

- A. Das Enzym verbindet sich mit dem Substrat zu einem Enzym-Substrat-Komplex
- B. Je nach Enzym können zwischen 10^2 und 10^7 Substratmoleküle pro Minute und aktives Zentrum umgesetzt werden.
- C. Die Reaktion $ES \rightarrow E + P$ verläuft wesentlich langsamer als die Reaktion $E + S \rightarrow ES$ und wird damit geschwindigkeitsbestimmend.
- D. Die Reaktion $E + S \rightarrow ES$ verläuft wesentlich langsamer als die Reaktion $ES \rightarrow E + P$ und wird damit geschwindigkeitsbestimmend.
- E. Die Umwandlung $ES \rightarrow EP$ erfolgt mit sehr viel höherer Geschwindigkeit als alle anderen Reaktionen.

Richtige Antwort: C

Frage:



In Punkt (3) der obigen Abbildung herrscht maximale Reaktionsgeschwindigkeit,

denn

es liegt kein freies Substrat mehr vor

	Aussage 1	Aussage 2	Verknüpfung
A.	richtig	richtig	richtig
B.	richtig	richtig	falsch
C.	richtig	falsch	---
D.	falsch	richtig	---
E.	falsch	falsch	---

Richtige Antworten: 1. C

2. E

Fragen:

1. Welche der folgenden Ergänzungen (A-E) trifft zu?

Man gibt die Konzentration bei halbmaximaler Geschwindigkeit für $[E] = [ES]$ an, weil,

- A. die maximale Reaktionsgeschwindigkeit ohne Bedeutung ist.
- B. die maximale Geschwindigkeit nie erreicht wird.
- C. die maximale Geschwindigkeit oft nicht exakt zu bestimmen ist.
- D. man mit der halben Menge im Reagenzglas wirtschaftlicher arbeiten kann.
- E. dies die einzige Geschwindigkeit ist, die graphisch ermittelt werden kann.

2. K_m ist abhängig von der Substratkonzentration,

denn

aus ihr kann die Größe von v für jede Substratkonzentration bestimmt werden.

	<u>Aussage 1</u>	<u>Aussage 2</u>	<u>Verknüpfung</u>
A.	richtig	richtig	richtig
B.	richtig	richtig	falsch
C.	richtig	falsch	---
D.	falsch	richtig	---
E.	falsch	falsch	---

Richtige Antwort : D

Frage:

Welche der Kombinationen A-E gibt die rechnerischen Voraussetzungen für die Darstellung nach Lineweaver-Burk richtig wieder?

1. Der Enzym-Substrat-Komplex zerfällt einerseits in E und S, andererseits in E und P
2. Die Bildungsgeschwindigkeit des Enzym-Substrat-Komplexes ist doppelt so groß wie die Zerfallsgeschwindigkeit.
3. Die Konzentration des ES-Komplexes bleibt im Zustand des Fließgleichgewichtes konstant.
4. Die Geschwindigkeitskonstante für die Reaktion $E + P \rightarrow ES$ ist vernachlässigbar klein.
5. Alle Überlegungen gelten auch ausserhalb des Fließgleichgewichtes.

- A. Aussagen 1, 3 und 5 sind rechnerische Voraussetzungen
- B. Aussagen 1,2, 3 und 4 sind Voraussetzungen
- C. Aussagen 2 und 4 sind Voraussetzungen
- D. Aussagen 1, 3 und 4 sind Voraussetzungen
- E. Alle Aussagen 1-5 sind Voraussetzungen

„Aktivität“



Temperatur, pH und die Anwesenheit
bestimmter Ionen fördern oder hin-
dern die Aktivität von Enzymen.

5. Einflußfaktoren auf die Enzymaktivität.

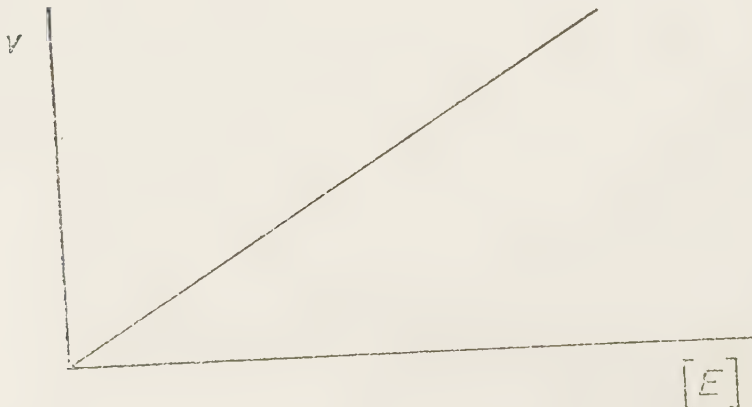
In diesem Abschnitt werden einige Faktoren dargestellt, die die Aktivität von Enzymen fördern oder hemmen. Als wesentlich sind dabei Temperatur, pH und die Anwesenheit bestimmter Ionen zu nennen.

k_{+2} begrenzt den Ablauf der Reaktion

$$\frac{k_{-1}}{k_{+1}} = K_S$$

(14)

Geschwindigkeit in Abhängigkeit
von der Enzymkonzentration
bei Substratsättigung



5.1. Limitierung durch k_{+2}

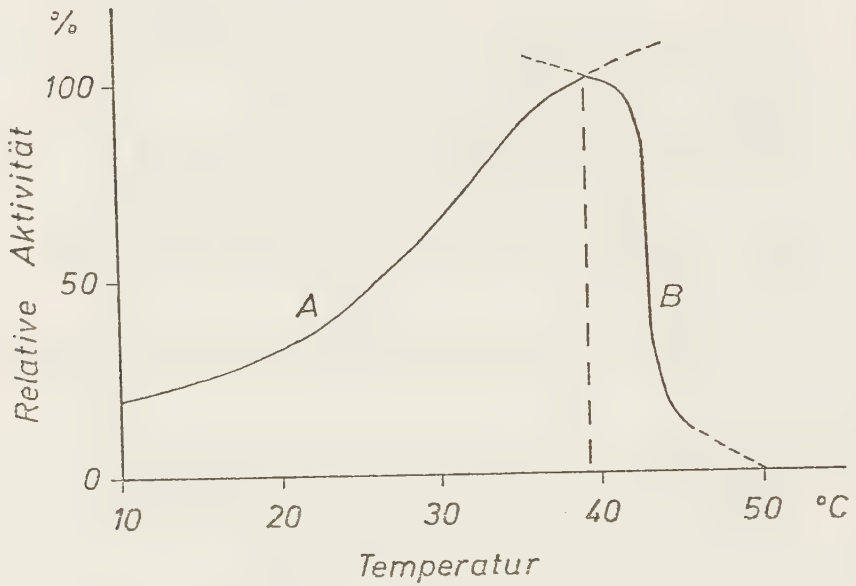
In vielen Fällen wird der Ablauf der Gesamtreaktion durch die Geschwindigkeitskonstante k_{+2} der Reaktion $ES \rightarrow E + P$ limitiert, d.h. $k_{+2} < k_{+1}$ bzw. k_{-1} , und man erhält die Gleichung (14).

K_s bezeichnet die "Substratkonstante". Sie ist die Dissoziationskonstante des Enzym-Substrat-Komplexes und oft numerisch gleich mit der Michaelis-Konstanten. Sind K_s und K_m verschieden, so ist $1/K_s$ stets grösser als $1/K_m$.

Reaktionsgeschwindigkeit als Funktion der Enzymkonzentration

Unter der Voraussetzung der Substratsättigung ist die Geschwindigkeit der enzymatischen Reaktion direkt proportional der Enzymkonzentration, da das Enzym mit dem Substrat eine labile Bindung eingeht.

Aktivität in Abhängigkeit von der Temperatur



- A: mit steigender kinetischer Energie
steigt die Reaktionsgeschwindigkeit
- B: thermische Denaturierung des Enzyms

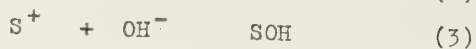
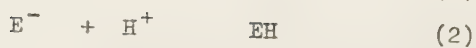
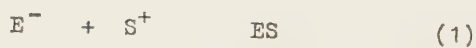
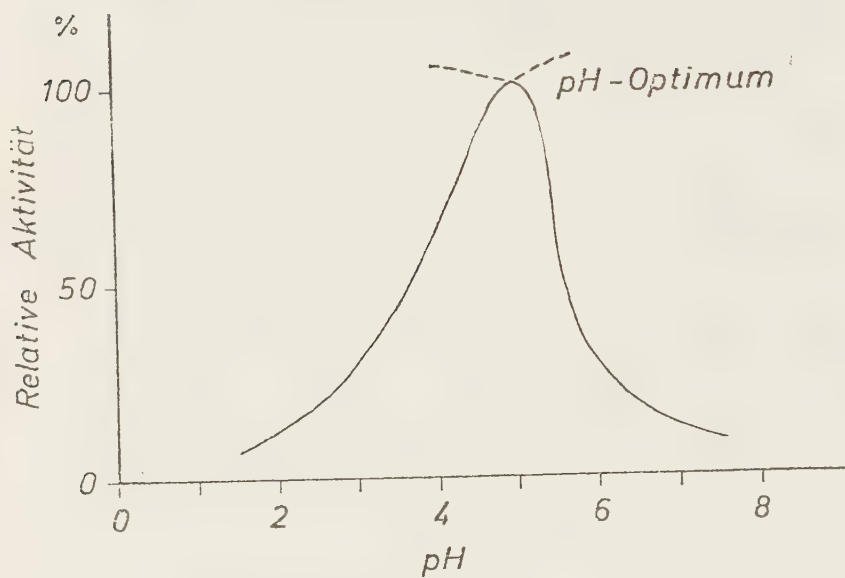
5.2. Aktivität in Abhängigkeit von der Temperatur.

Die enzymatische Reaktion ist wie alle chemischen Reaktionen temperaturabhängig. Die Reaktionsgeschwindigkeit nimmt zunächst mit steigender Temperatur zu als Ausdruck einer wachsenden kinetischen Energie der reagierenden Moleküle. Wenn ein Temperatur-Maximum überschritten ist, fällt die Reaktionsgeschwindigkeit meist rapide ab. Der Grund liegt in der thermolabilen Struktur der Enzyme als Proteine, die bei erhöhter Temperatur denaturiert werden. Die Nebenvalezenzen, die das Enzym in seiner räumlichen Konformation halten, werden gelöst, dabei geht enzymatische Aktivität verloren. Die Denaturierung kann schon bei 30°C beginnen. Das Temperaturmaximum liegt umso niedriger je länger ein Versuch dauert.

Die Kurve der enzymatischen Aktivität in Abhängigkeit von der Reaktionstemperatur zeigt einen asymmetrischen Verlauf, da Reaktionsbeschleunigung durch Temperaturerhöhung und Denaturierung zwar nebeneinander, aber nicht im gleichen Ausmaß ablaufen.

Für die Enzyme in der lebenden Zelle liegt das Temperaturmaximum oft in der Nähe der Körpertemperatur. Die thermische Denaturierung muß durch eine ständige Neusynthese von Enzymen ausgeglichen werden.

Aktivität in Abhängigkeit vom pH



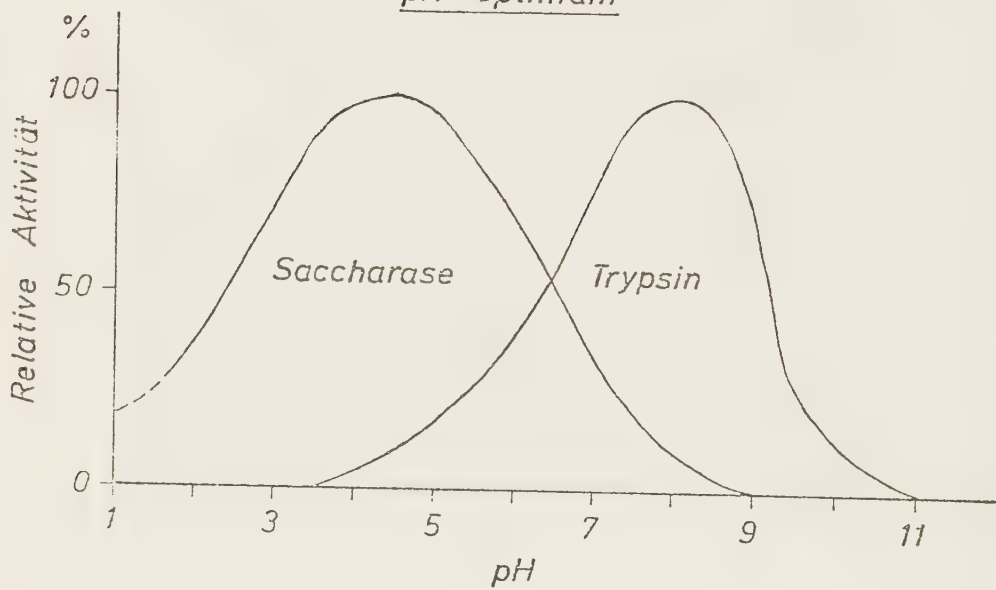
5.3. Abhängigkeit der Enzymaktivität vom pH.

Da die Enzyme Proteine sind, werden ihre Eigenschaften durch den pH-Wert ihres Milieus stark beeinflusst. Die H^+ -Konzentration, bei der die Aktivität eines Enzyms am höchsten ist, bezeichnet man als das pH-Optimum. Es wird angenommen, daß diese Eigenschaft unter anderem mit dem Dissoziationszustand des "aktiven Zentrums" zusammenhängt. Bei niedrigem pH sind viele Enzyme einer Säuredenaturierung unterworfen. Die H^+ -Konzentration beeinflusst die elektrische Ladung von E und S. Ein negatives E reagiert mit einem positiv geladenen S : "Reaktionsgleichung (1) .

Bei niedrigem pH wird E protoniert oder verliert seine negative Ladung: Reaktionsgleichung (2) .

Das Gleiche gilt für das Substrat bei höherem pH: Reaktionsgleichung (3) . Der Verlauf der pH-Aktivitätskurve entspricht der Dissoziationsrestkurve eines Ampholyten. Die beiden Dissoziationskurven haben als Resultante einen Gipfel.

pH - Optimum



Das in vitro an einem isolierten Enzym gemessene pH-Optimum sagt nichts darüber aus, bei welchem pH das Enzym in der lebenden Zelle wirkt. Für die meisten Enzyme liegt das pH-Optimum im neutralen oder schwach sauren Bereich; Extremwerte weisen einige Verdauungsenzyme auf:

Pepsin	1,5 - 2,5
Trypsin	7,5 - 10
Pankreaslipase	ca. 8,0

AKTIVIERUNG von ENZYMEN

durch

bestimmte Ionen

z.B.:

Kinasen: Mg^{++}

5.4. Abhängigkeit der Aktivität von Ionen

Viele Enzyme benötigen bestimmte Ionen für ihre Aktivität. Amylasen zum Beispiel benötigen Cl^- -Ionen; Enzyme, die ATP umsetzen, sind fast immer Mg^{2+} -abhängig. Zahlreiche Peptidasen oder Metalloproteide werden von Mn^{2+} , Zn^{2+} oder Co^{2+} aktiviert. Einige Enzyme werden von wenig Ionen aktiviert, andere von vielen. Bei vielen Reaktionen ist der Einfluß der Ionen in seinem Mechanismus nicht geklärt. Es werden Komplexe angenommen, die das Substrat "auflockern".

Richtige Antworten: 1. E

2. E

Fragen:

1. Welche der folgenden Aussagen ist falsch?
 - A. Die Geschwindigkeit einer enzymatischen Reaktion nimmt unterhalb eines Temperaturoptimums zunächst mit steigender Temperatur zu.
 - B. Oberhalb eines Temperaturoptimums fällt die Reaktionsgeschwindigkeit meist rapide ab.
 - C. Bei steigender Temperatur werden Enzyme zunehmend denaturiert.
 - D. Das Temperaturoptimum eines Enzyms liegt umso niedriger je länger ein Enzymtest dauert.
 - E. Bei Körpertemperatur ist eine thermische Denaturierung von Enzymen in der lebenden Zelle nicht möglich.

2. Die Kurve, bei der die enzymatische Aktivität gegen die Temperatur aufgetragen ist, zeigt einen symmetrischen Verlauf,

denn

Reaktionsbeschleunigung durch Temperaturerhöhung und Denaturierung gehen in gleichem Ausmaß parallel

	<u>Aussage 1</u>	<u>Aussage 2</u>	<u>Verknüpfung</u>
A.	richtig	richtig	richtig
B.	richtig	richtig	falsch
C.	richtig	falsch	---
D.	falsch	richtig	---
E.	falsch	falsch	---

Richtige Antwort : D

Frage:

Bei pH 3,5 sind alle Enzyme einer Säuredenaturierung unterworfen,

denn

das pH-Optimum der meisten Enzyme liegt im neutralen bis schwach sauren Bereich

	<u>Aussage 1</u>	<u>Aussage 2</u>	<u>Verknüpfung</u>
A.	richtig	richtig	richtig
B.	richtig	richtig	falsch
C.	richtig	falsch	---
D.	falsch	richtig	---
E.	falsch	falsch	---



Enzyminduktion

Enzyminduktion hilft der Zelle, den aktuellen Vorrat an vorhandenen Enzymen sinnvoll klein zu halten.

6. Enzyminduktion und Enzymrepression

Keine Zelle kann alle vorhandenen oder irgendwann einmal benötigten Enzyme auf Vorrat synthetisieren und konservieren. Das Zusammenwirken von Enzyminduktion und Enzymrepression sorgt dafür, daß in der Zelle nur die gerade benötigten Enzyme synthetisiert werden.

ENZYMINDUKTION

Das Substrat induziert
die Synthese der Enzyme,
die zu seiner Umsetzung
nötig sind.

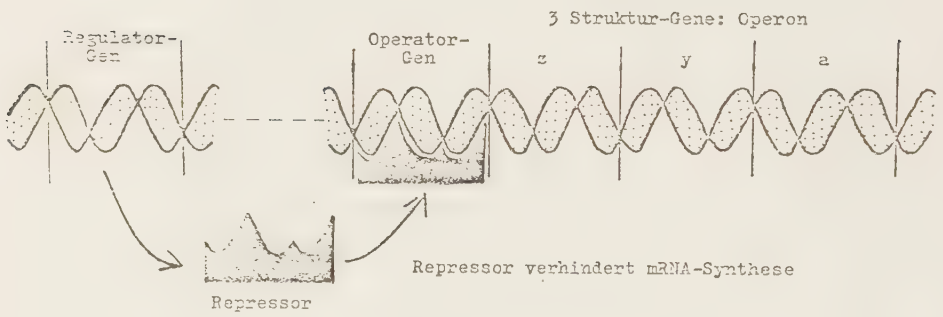
Jede Zelle synthetisiert die benötigten Proteine und Enzyme entsprechend den metabolischen Anforderungen und Gegebenheiten bzw. entsprechend dem Grad ihrer Differenzierung. Zum Beispiel wird in der laktierenden Mamma die Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase induziert. Dies ermöglicht eine vermehrte Fettsäuresynthese.

Bei einigen Bakterien, die man veränderten Lebensbedingungen aussetzte, ist dies recht gut untersucht. Ein Kontrollmechanismus für die Synthese der m-RNA versetzt die Zelle in die Lage, sich relativ rasch veränderten Lebensbedingungen anzupassen. Diese Fähigkeit wurde früher als enzymatische Adaptation aufgefaßt; heute spricht man hierbei von der Enzyminduktion.

E.coli zum Beispiel besitzt einen Enzym-Apparat, um Glucose oder Glycerin zu verwerten. Wird diesen Bakterien Lactose angeboten, können sie diese nicht ohne weiteres umsetzen. Die Spaltung in Galactose und Glucose ist zunächst nicht möglich. Bei Angebot dieses "ungewöhnlichen" Nährstoffes fehlen zunächst Enzyme, die zur Verarbeitung notwendig sind; normalerweise werden sie nicht benötigt. In unserem Beispiel werden nach Induktion durch Lactose drei Enzyme synthetisiert:

- Eine Permease stimuliert den Eintritt in die Zelle
- Eine β -Galactosidase spaltet Lactose zu Galactose und Glucose
- Eine Transacetylase, deren Bedeutung in diesem Zusammenhang nicht klar ist.

Strukturgene auf der DNA durch Repressor blockiert



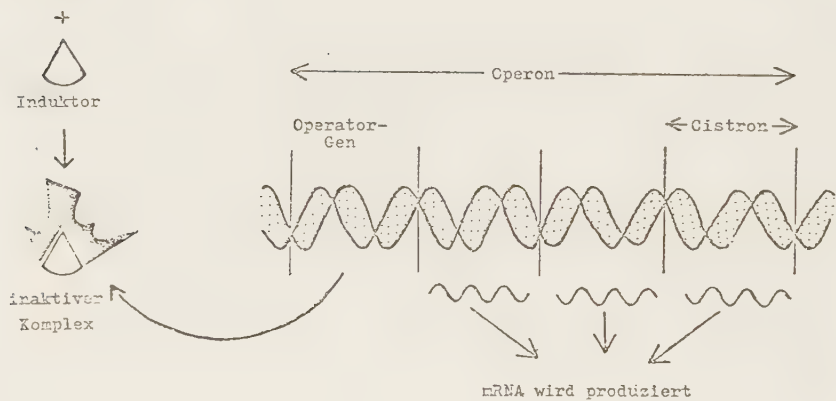
6.1. Wirkungsweise des Repressors.

Für jedes dieser drei Enzyme existiert ein bestimmter Abschnitt auf der DNA, der jeweils die Information zur Synthese des entsprechenden Enzyms enthält. Diese drei Abschnitte - Cistren - sind hintereinander angeordnet und werden mit den Buchstaben z, y und a bezeichnet. Vor den drei Cistren liegt der Operator mit Regulationseigenschaften. An der Spitze des Promotors, der die Eigenschaften eines Transskriptionsstarters für die Synthese der m-RNA. Die Einheit aus drei Cistren, dem Operator und dem Promotor wird zusammen als Operon bezeichnet. Die Funktion des Operons wird durch ein Regulator-Gen, das an einem anderen Ort des Chromosoms liegt, kontrolliert.

Wenn dem Bakterium keine Lactose als Nährstoff angeboten wird, ist die Synthese der drei erwähnten Enzyme überflüssig. Das Regulator-Gen bildet einen Repressor mit zweifacher Bindungsmöglichkeit: einmal für den Operator, zum anderen für den Induktor. Der Repressor erkennt den Operator als Teilstück des Operons und wird dort fixiert. Somit maskiert er die DNA-Matrize, und die folgenden Struktur-Gene - die Cistren - können nicht abgelesen werden.



Induktor inaktiviert Repressor



6.2. Induktor inaktiviert Repressor.

Gelangt ein Substrat, das als Induktor fungiert, in die Zelle, so wird die räumliche Struktur des Repressor-Proteins geändert. Auf Grund seiner zweiten Spezifität verbindet es sich mit dem Induktor zu einem Repressor-Induktor-Komplex, der den Operator nicht mehr blockieren kann. Die Synthese von mRNA und in der Folge die Enzymsynthese können beginnen. Das Substrat hat somit selbst die Synthese derjenigen Enzyme induziert, die zu seiner Umsetzung nötig sind.

Bleibt der Induktor aus, kann kein Repressor-Induktor-Komplex mehr gebildet werden: der Repressor bleibt frei und blockiert wieder den Operator; die Enzymsynthese hört wieder auf.

Im Organismus übernehmen zum Beispiel die Corticosteroide der Nebennierenrinde die Rolle von Induktoren. Diese verbinden sich mit dem Repressor-Molekül, bisher blockierte DNA wird freigelegt, die Synthese von m-RNA kommt in Gang; schließlich werden an den Ribosomen die induzierten Enzyme gebildet - zum Beispiel die der Gluconeogenese. Die gleichen Corticoide haben dagegen im Thymus eine starke Hemmwirkung auf die RNA-Polymerase-Aktivität.

Richtige Antworten:

1. C
2. A
3. E
4. E
5. D

Frage:

Ordnen Sie den Begriffen der Liste I die Begriffe bzw. Erklärungen der Liste II zu!

Liste I:

1. Operon
2. Regulator-Gen
3. Maskierte DNA-Matrize
4. Operator
5. Cistron

Liste II:

- A. bildet Repressor mit Spezifität für Operator und Induktor
- B. Struktur-Gene können nicht abgelesen, Proteine bzw. Enzyme können nicht synthetisiert werden
- C. Gruppe mehrerer, für eine bestimmte Aufgabe sinngemäß zusammengehörender Cistren mit Operator und Promotor
- D. bestimmte Abschnitte auf der DNA mit der Information für je ein spezifisches Protein
- E. Gen, das durch Verbindung mit dem Repressor Regulationsfunktionen ausüben kann

Richtige Antwort: D

Frage:

Wie kommt es, daß das Substrat selbst die Synthese der Enzyme induziert, die zu seiner Umsetzung nötig sind?

- A. Das Substrat verbindet sich mit dem Operator-Gen, wodurch die DNA demaskiert wird.
- B. Ein Substrat, das als Induktor fungiert, lagert sich an ein Cistron an.
- C. Das Substrat verbindet sich mit Induktor und Repressor zu einem inaktiven Komplex, der das Operator-Gen nicht mehr blockieren kann.
- D. Ein Substrat, das als Induktor fungiert, verbindet sich mit dem Repressor, so daß der Operator nicht mehr durch den Repressor blockiert werden kann.
- E. Substrat, Induktor und Operon verbinden sich zu einem aktiven Komplex; das Operator-Gen kann nun die Struktur-Gene ablesen.

SPEZIFITÄTEN DES ENZYMS

WIRKUNGSSPEZIFITÄT

SUBSTRATSPEZIFITÄT

GRUPPENSPEZIFITÄT

OPTISCHE SPEZIFITÄT

7. Spezifität der Enzymkatalyse.

Die Spezifität der Enzyme ordnet und reguliert die Vielfalt der möglichen Reaktionen. Jetzt werden die Begriffe Wirkungsspezifität und Substratspezifität erklärt; Optische Spezifität und Isoenzyme sind weitere Eigenschaften, ein System in der Tätigkeit der Enzyme zu erkennen.

Wirkungsspezifität

Verschiedene Enzyme konkurrieren um ein Substrat

Substrat	Enzym	Reaktionsprodukt	Reaktionstyp
Glucose-6-phosphat	Phosphoglucose-mutase	Glucose-1-phosphat	Umesterung
	Glucose-6-phosphat-Isomerase	Fructose-6-phosphat	Isomerisierung
	Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase	Gluconlacton-6-phosphat	Oxidation
	Glucose-6-phosphat-Phosphatase	Glucose und Phosphat	Hydrolyse

7.1. Wirkungsspezifität

Das Enzym besitzt die Fähigkeit, von verschiedenen Reaktionen eine auszuwählen und nur diese zu katalysieren. Ein anderes Enzym mit einer anderen Wirkungsspezifität löst eine andere Reaktion aus. Ein Beispiel gibt die nebenstehende Tabelle.

Substratspezifität

*Enzyme wirken nur auf
bestimmte chemische Gruppen*

7.2. Substratspezifität.

Die Enzyme haben die Fähigkeit, nur mit einem bestimmten Substrat bevorzugt zu reagieren. Diese Substratspezifität drückt sich darin aus, daß viele Enzyme nur auf bestimmte chemische Gruppen wirken. Proteasen spalten Peptidbindungen an den meisten Proteinen und oft auch an synthetischen Substraten. Die Spezifität ist hier aber nur auf Peptidbindungen gerichtet, an denen ganz bestimmte Aminosäuren beteiligt sind. Nahe verwandte Stoffe werden zwar angelagert, aber nicht umgesetzt und wirken dadurch als Hemmstoffe.

Gruppenspezifität

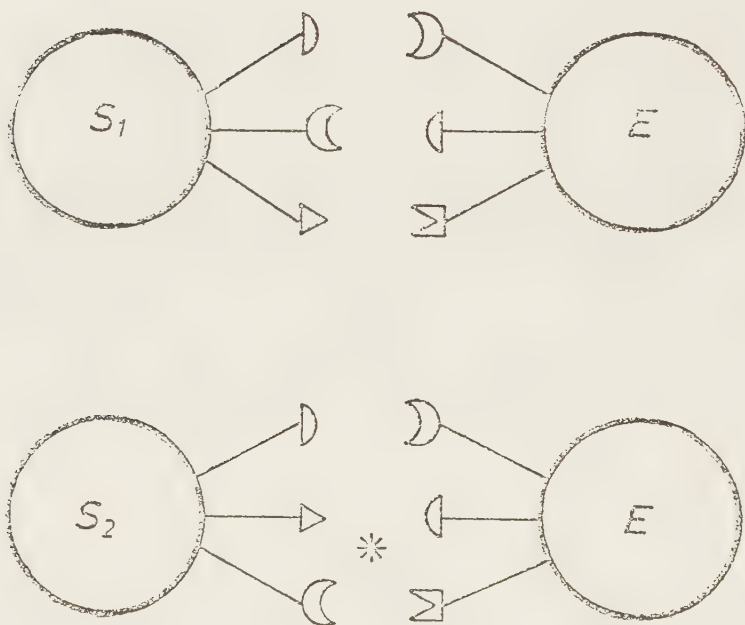
Substrate

*mit chemisch ähnlichen Gruppen
werden langsamer umgesetzt*

7.3. Gruppenspezifität.

Absolute Spezifität eines Enzyms für ein einzelnes Substrat ist selten. Manche Enzyme reagieren mit mehreren chemisch ähnlichen Substraten in analoger Weise; doch sind in diesen Fällen die Reaktionsgeschwindigkeit und die Affinität für ähnliche Substrate niedriger als für das bevorzugte Substrat. Die physiologische Spezifität ist somit sehr ausgeprägt. Ein Beispiel hierfür ist die Hexokinase: das bevorzugte Substrat ist Glucose, es kann aber auch Fructose umgesetzt werden. In der Zelle ist wegen der grösseren Affinität die Hexokinase in der Regel mit Glucose besetzt, so daß die prinzipiell mögliche Umsetzung der Fructose physiologisch kaum Bedeutung hat.

Optische Spezifität



7.4. Optische Spezifität

Von zwei optischen Isomeren als Substrat wird nur jeweils ein Vertreter umgesetzt. Die optische Spezifität wird mit einer Dreipunkt-Bindung des Substrates an das Enzym erklärt. Dabei entsprechen drei Substituenten des asymmetrischen (optisch aktiven) C-Atoms im Substrat drei komplementären Bindungsstellen im Enzym.

Beim optischen Antipoden sind zwei Substituenten vertauscht, die entsprechenden Bindungsstellen können nicht mehr zur Deckung gebracht werden. Dadurch kann das Substrat nicht gebunden und dementsprechend nicht umgesetzt werden. Dadurch wird zum Beispiel auch erklärt, daß die Reaktion Pyruvat --- Laktat mit absoluter Stereospezifität durchgeführt wird; es entsteht ausschliesslich L-Milchsäure. Ein Sonderfall der optischen Spezifität bezieht sich auf die halbacetalischen Hydroxylgruppen; das Enzym Maltase spaltet zum Beispiel nur -1,4-glykosidische Bindungen der Glucose.

Isoenzyme

- katalysieren die gleiche Reaktion*
- unterscheiden sich in der Regulation der Aktivität*

1.5. Isoenzyme

Isoenzyme nennt man Enzyme, die die gleiche Reaktion katalysieren und einander chemisch sehr ähnlich sind. Sie lassen sich mit Methoden der Proteinchemie voneinander trennen. Sie unterscheiden sich meist in Eigenschaften, die für die Regulation der Aktivität von Bedeutung sind. Darin liegt wohl ihre biologische Funktion.

Für das Beispiel Laktatdehydrogenase wurde der Aufbau von Isoenzymen zuerst geklärt. Jedes aktive Molekül besteht aus vier Untereinheiten. Aus zwei Arten von Peptidketten - A und B genannt - lassen sich fünf verschiedene Tetramere konstruieren: AAAA, AAAB, AABB, ABAB und BBBB. Isolierung und Charakterisierung von fünf Isoenzymen der Laktatdehydrogenase haben diese theoretischen Überlegungen bestätigt.

Die einzelnen Isoenzyme kommen in verschiedenen Organen zum Teil in unterschiedlicher Verteilung vor.

Für die Annahme von Isoenzymen gelten die folgenden Bedingungen:

- Verschiedene biochemische und physikalische Charakteristika einzelner Isoenzyme (K_m -Werte, Hemmbarkeit, Hitzelabilität) trotz gleichen Molekulargewichtes und annähernd gleicher Substratspezifität
 - Unterschiedliche Verteilungsmuster in verschiedenen Geweben und Organen; dadurch ist ihr Nachweis ein wichtiges diagnostisches Hilfsmittel, z.B. LDH-Isoenzyme aus Leber und Herzmuskel.
- Unterschiedliche genetische Kontrolle der einzelnen Isoenzyme.

Richtige Antworten: 1. C
2. A
3. D
4. B
5. E

Fragen:

Ordnen Sie den Begriffen der Liste I die Erklärungen der Liste II zu!

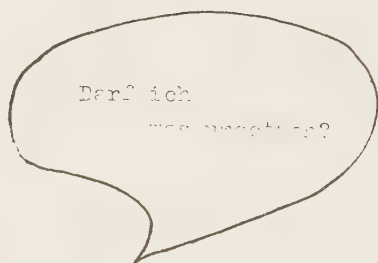
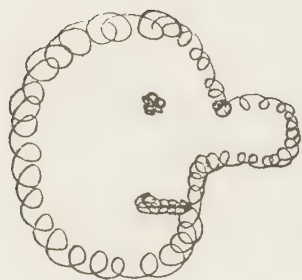
Liste I:

1. Wirkungsspezifität
2. Substratspezifität
3. Gruppenspezifität
4. Enzymspezifität

Liste II:

- A. Nahe verwandte Stoffe werden zwar angelagert, aber nicht umgesetzt; sie wirken dadurch als Hemmstoffe
 - B. Drei Substituenten des asymmetrischen C-Atoms im Substrat entsprechen drei komplementären Bindungsstellen im Enzym
 - C. Von verschiedenen möglichen Reaktionen wird eine ausgewählt und nur diese katalysiert
 - D. Chemisch ähnliche Substrate werden auch gebunden und umgesetzt, jedoch mit geringerer Reaktionsgeschwindigkeit und Affinität
 - E. Keine der Erklärungen A-D ist als Zuordnung geeignet
5. Welche der folgenden Ergänzungen ist falsch?
- Isoenzyme nennt man Enzyme,
- A. die die gleiche Reaktion katalysieren
 - B. die von zwei Isomeren, z.B. optischen Isomeren nur einen Vertreter umsetzen
 - C. die trotz gleicher Substratspezifität und gleichem Molekulargewicht verschiedene biochemische und physikalische Charakteristika aufweisen
 - D. die ein unterschiedliches Verteilungsmuster in verschiedenen Organen und Geweben aufweisen
 - E. die genetisch unterschiedlich kontrolliert werden

Heimung enym tischer Techtionen

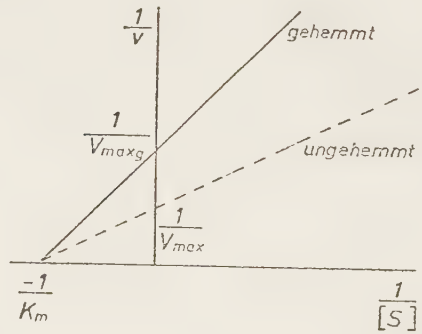
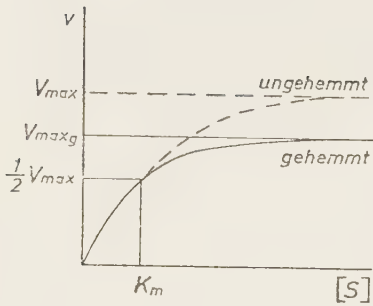


8. Hemmung enzymatischer Reaktionen.

Durch Steigerung oder Hemmung der Enzymaktivitäten kann der Stoffwechsel eines Organismus reguliert werden. In diesem Abschnitt werden die verschiedenen Arten der Enzymhemmung beschrieben. Dabei klingen einige Hemmungstypen vom Namen her recht ähnlich, z.B. kompetitiv, nicht kompetitiv und unkompetitiv; sie sollten aber in der Wirkungsweise fein säuberlich unterschieden werden.

In vielen Fällen übernehmen Zwischenprodukte des Stoffwechsels oder Coenzyme die Rolle physiologischer Aktivatoren oder Inhibitoren. Die Wirkung der meisten Heilmittel oder Gifte beruht auf der Hemmung bestimmter Enzyme.

Nichtkompetitive Hemmung

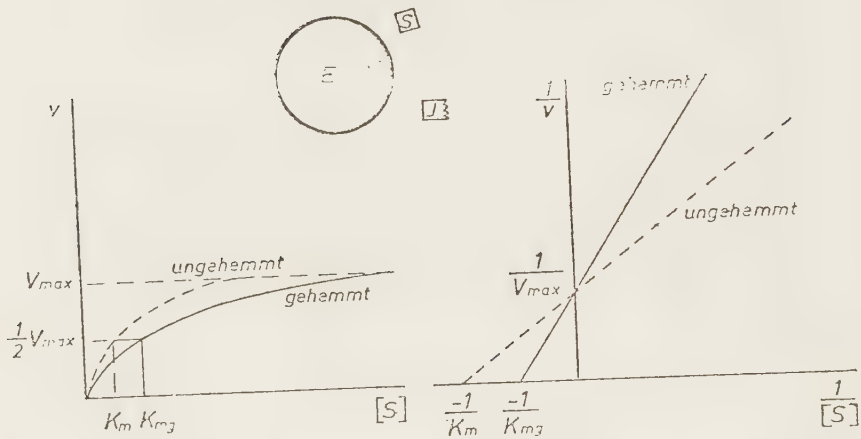


8.1. Nichtkompetitive Hemmung

Der Inhibitor lagert sich ausserhalb des aktiven Zentrums an das Enzym an. Die Enzymaktivität wird dabei herabgesetzt, ohne daß die Bindungsverhältnisse zwischen Enzym und Substrat beeinflußt werden. Verschiedene Substratkonzentrationen können das Ausmaß der Hemmung nicht ändern.

Cyanid reagiert zum Beispiel mit Metallionen, die für die Aktivität des Enzyms notwendig sind. Andere Inhibitoren sind Schwermetalle (Hg, Cu, Fe), die mit SH-Gruppen des Enzyms Merkapptide bilden. Ein nichtkompetitiver Hemmstoff verkleinert die maximale Geschwindigkeit bei gleichbleibender Michaelis-Konstanten.

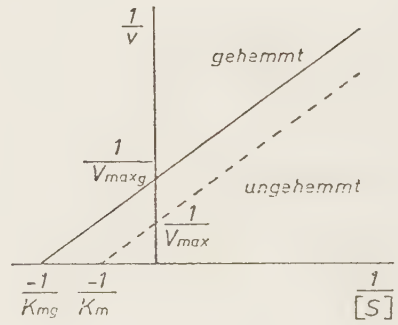
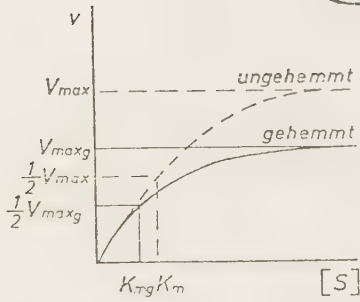
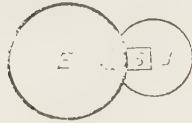
Kompetitive Hemmung



8.2. Kompetitive Hemmung

Wenn Substrat und Hemmstoff eine ähnliche chemische Struktur haben, können sie miteinander um das aktive Zentrum des Enzyms konkurrieren. Ein Beispiel hierfür ist die Hemmung der Succinat-Dehydrogenase durch Malonsäure. Die maximal mögliche Reaktionsgeschwindigkeit - bei Substratsättigung des Enzyms - verändert sich dabei nicht; zur Erreichung der gleichen Reaktionsgeschwindigkeit wie bei ungehemmter Reaktion sind jedoch jeweils höhere Substratkonzentrationen erforderlich. Das Ausmaß der Hemmung hängt vom Konzentrationsverhältnis Inhibitor/Substrat ab. Eine große Hemmstoffkonzentration kann das Substrat praktisch vollständig vom aktiven Zentrum des Enzyms verdrängen; umgekehrt kann bei hinreichender Substratkonzentration der Hemmstoff wieder verdrängt werden. Damit ist die erreichbare maximale Reaktionsgeschwindigkeit $v_{\max}$ unverändert, die Michaeliskonstante K_m ist gegenüber der ungehemmten Reaktion erhöht.

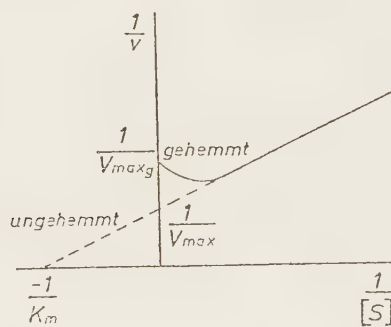
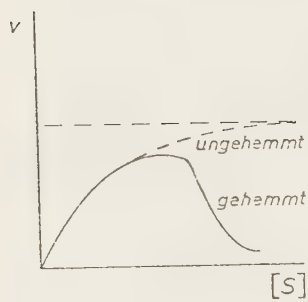
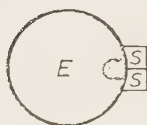
Unkompetitive Hemmung



3.3. Unkompetitive Hemmung

Wenn ein Inhibitor mit dem Enzym-Substrat-Komplex reagiert, werden maximale Reaktionsgeschwindigkeit und Michaelis-Konstante in gleichem Maße herabgesetzt. Das Verhältnis K_m/v_{max} bleibt gleich. Ein Beispiel ist die Hemmung der oxidierten Form der Cytochrom-Oxidase durch Azid.

Hemmung durch Substratüberschuß

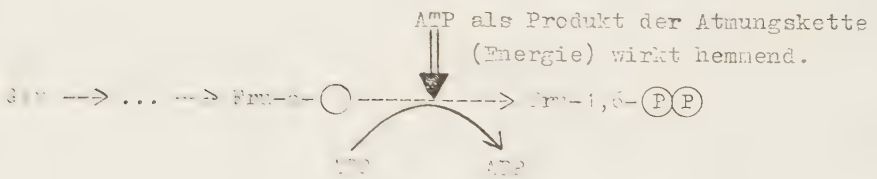


8.4. Hemmung durch Substratüberschuß

Wird bei manchen Enzymen die Substratkonzentration stark erhöht, kann es neben der Bildung des aktiven Komplexes ES auch zur Bildung eines mehr oder weniger aktiven bzw. inaktiven Komplexes ESS kommen. Die Hemmung wird umso stärker, je grösser der Substratüberschuß ist. Die Geschwindigkeits-Konzentrationskurve hat die Form einer Glocke und durchläuft ein Substratoptimum.

Stoffwechselwege

Phosphofructokinase - gehemmt durch ATP
(Feedback-Effekt)

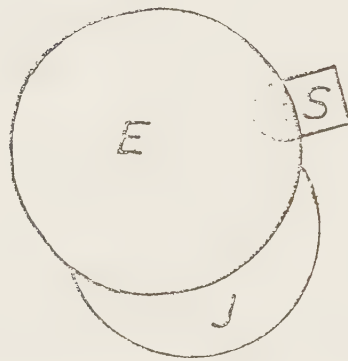


8.5. Allosterische Hemmung; feed-back-Hemmung

Eine Hemmung enzymatischer Reaktionen kann auch durch Substanzen bewirkt werden, die keine strukturelle Ähnlichkeit mit dem Substrat besitzen. Gerade diese Art der Hemmung scheint für die Regulation von Stoffwechselprozessen von großer Bedeutung zu sein: Das Endprodukt einer enzymatischen Reaktionskette hemmt eine Reaktion am Beginn dieser Kette, wenn es selbst nicht abgebaut oder ausgeschieden wird.

Ein Beispiel dafür ist die Schlüsselreaktion des Emden-Meyerhof-Abbaus, die Phosphofructokinase-Reaktion. Bei Sauerstoff- (und in dessen Folge ATP-) Mangel hilft sich der Organismus mit anaerober Glykolyse. Ist wieder genügend Sauerstoff und aus der Atmungskette genügend ATP vorhanden, hemmt dieses ATP die Phosphorylierung von Fructose-6-phosphat zu Fructose-1,6-bisphosphat, bis das ATP als Energiespender anderweitig verbraucht wird.

Allosterische Hemmung



Den Mechanismus der Rückkopplungshemmung erklärt man mit der Annahme, daß das gehemmte Enzym mindestens zwei Zentren besitzt; das eine (aktive) Zentrum katalysiert den Substratumsatz, das andere (allosterische) Zentrum reagiert mit dem Inhibitor. Der K_m -Wert des allosterischen Zentrums ist in dem genannten Beispiel höher als der K_m -Wert des aktiven. Beide Zentren können ATP binden, das aktive Zentrum als Cosubstrat, das allosterische als Inhibitor. Durch die Besetzung des allosterischen Zentrums wird die Konformation des Enzyms so verändert, daß daraus eine verminderte Aktivität resultiert.

Enzyme können nicht nur allosterisch gehemmt, sondern auch aktiviert werden.

6.6. Antienzyme

Im Pankreas und anderen Säugetierorganen sind Enzymhemmstoffe enthalten, die als Antienzyme bezeichnet werden. Diese sollen zum Beispiel Organe des Verdauungstraktes vor Selbstverdauung schützen. Spezifische Trypsininhibitoren sind zum Beispiel in Hülsenfrüchten enthalten.

Richtige Antworten: 1. D

2. E

Fragen:

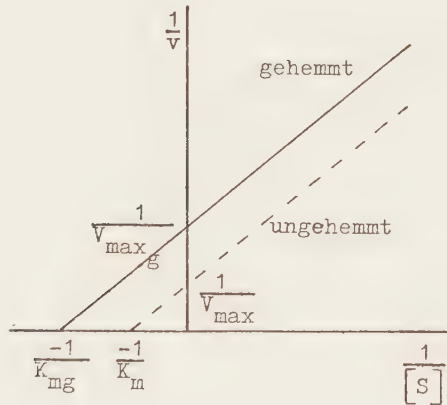
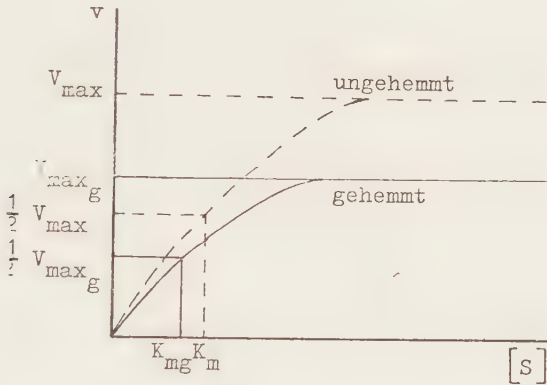
1. Welche Aussage über die nichtkompetitive Hemmung ist falsch?
 - A. Der Inhibitor wird ausserhalb des aktiven Zentrums an das Enzym gebunden.
 - B. Die Bindungsverhältnisse zwischen Enzym und Substrat werden nicht beeinflusst.
 - C. Erhöhte Substratkonzentration kann das Ausmaß der Hemmung nicht beeinflussen.
 - D. Ein nichtkompetitiver Hemmstoff verkleinert die maximale Reaktionsgeschwindigkeit und die Michaeliskonstante.
 - E. Im Diagramm nach Lineweaver-Burk ist die Steigung der Geraden für die ungehemmte Reaktion kleiner als für die gehemmte Reaktion.

2. Welche Aussage über die kompetitive Hemmung ist falsch?
 - A. Substrat und Hemmstoff haben eine ähnliche Struktur.
 - B. Verschiedene Substratkonzentrationen können das Ausmaß der Hemmung nicht beeinflussen.
 - C. Die Affinität zwischen Enzym und Substrat ist herabgesetzt.
 - D. Die maximale Reaktionsgeschwindigkeit kann auch in der kompetitiv gehemmten Reaktion erreicht werden.
 - E. Im Lineweaver-Burk-Diagramm kreuzen sich die Geraden für gehemmte und ungehemmte Reaktion in dem Punkt: $\frac{1}{v_{\max}}$.

Richtige Antwort: Unkompetitive Hemmung

Frage:

Welchem Hemmungstyp würden Sie diese Diagramme zuordnen?



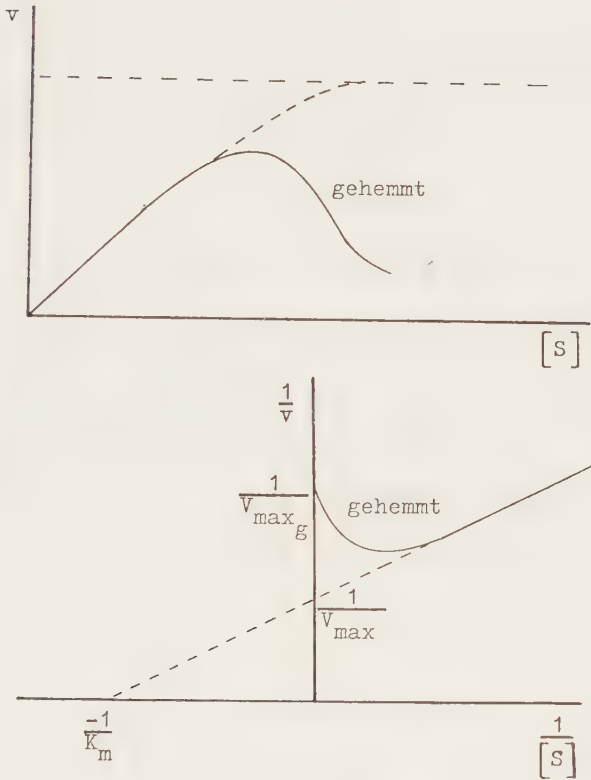
oberes Diagramm : direkte Auftragung

unteres Diagramm : doppelt reziproke Auftragung

Richtige Antwort: Hemmung durch Substratüberschuß

Frage:

Welchem Hemmungstyp würden Sie diese Diagramme zuordnen?



Richtige Antworten:

1. C

2. B

3. E

4. A

5. D

Frage:

Ordnen Sie den Hemmungstypen der Liste I die Erklärungen der Liste II zu!

Liste I:

1. Nichtkompetitive Hemmung
2. Kompetitive Hemmung
3. Unkompetitive Hemmung
4. Hemmung durch Substratüberschuß
5. Allosterische Hemmung

Liste II:

- A. Es kommt zu Bildung eines wenig-aktiven oder inaktiven Komplexes ESS.
- B. Substrat und Hemmstoff haben eine ähnliche chemische Struktur und können miteinander um das aktive Zentrum des Enzyms konkurrieren.
- C. Der Inhibitor lagert sich ausserhalb des aktiven Zentrums an das Enzym an.
- D. Der Inhibitor verändert die Konformation des Enzyms.
- E. Ein Inhibitor reagiert mit dem Enzym-Substrat-Komplex.

NOMENKLATUR

Ribulose-5-Phosphat-Epimerase

SYSTEMATIK

6 Hauptklassen

9. Nomenklatur und Systematik der Enzyme

Nicht nur die Anatomie hat ihre Nomenklatur, und nicht nur die Chemie kennt das Periodensystem der Elemente. Die Enzyme werden in sechs Hauptklassen unterteilt. Die Namen der Enzyme bestehen sich größtenteils aus Substrat und Reaktion, so daß die meisten Namen leicht abgeleitet werden können.

Enzyme haben dreiteilige Namen:

1. - Substrat
2. - Typ der Reaktion
3. - "ase"

9.1. Nomenklatur

Lang bekannte Enzyme haben Trivialnamen, die noch im Sprachgebrauch sind: Zum Beispiel Trypsin oder Pepsin.

Später wurde die Endung - ase an die Bezeichnung der Reaktion gehängt: Dehydrogenasen dehydrieren Substrate, Transferasen übertragen Gruppen, Amylasen spalten Stärke etc. Inzwischen sind dreiteilige Enzymbezeichnungen üblich:

- Teil 1 bezeichnet das Substrat
- Teil 2 nennt den Typ der Reaktion
- Teil 3 ist die Nachsilbe "-ase".

Zusätzliche Bezeichnungen können (in Klammern) folgen.

Die international festgelegten Enzymbezeichnungen sind wesentlich umfangreicher. Hier sind alle Substrate, Produkte und Cofaktoren im Namen enthalten. Da diese Bezeichnungen unhandlich sind, werden im allgemeinen Gebrauch die kürzeren Namen verwendet.

Sechs Hauptklassen:

- I Oxydoreduktasen
 (Laktatdehydrogenase)
- II Transferasen
 (Cholin-Acetyl-Transferase)
- III Hydrolasen
 (Pepsin)
- IV Lyasen
 (Pyruvat-Decarboxylase)
- V Isomerasen
 (Ribulose-5-Phosphat-Epimerase)
- VI Ligasen
 (Acetyl-CoA-Carboxylase)

9.2. Systematik

Die Enzyme sind in sechs Hauptklassen mit je ein bis 13 Unterklassen eingeteilt:

- I : Oxydoreduktasen: Die Oxydoreduktasen katalysieren die Oxydoreduktion zwischen einem Substratpaar. (Früher Dehydrogenasen oder Oxydasen). Beispiel Laktatdehydrogenase, Cytochromoxydase.
- II : Transferasen: Enzyme, die eine Gruppe, die nicht Wasserstoff ist, zwischen einem Substratpaar transferieren. Beispiele: Cholin-Acetyl-Transferase, Transaminase.
- III : Hydrolasen: Diese Enzyme spalten hydrolytisch Ester-, Äther-, Peptid-, Glycosid- oder Säureanhydrid-Bindungen. Beispiele: Amylasen, Pepsin, Lipasen, Phosphatasen.
- IV : Lyasen: Entweder spalten sie über einen nichthydrolytischen Mechanismus vom Substrat Gruppen ab und hinterlassen dabei eine Doppelbindung, oder sie katalysieren die Anlagerung einer Gruppe an eine Doppelbindung. Beispiele: Pyruvat-Decarboxylase, Fumarat-Hydratase, Fructose-1,6-Bisphosphat-Aldolase.
- V : Isomerasen: Diese Enzyme katalysieren die Umwandlung optisch, geometrisch oder sonstwie isomerer Verbindungen. Beispiele: Ribulose-5-phosphat-Isomerase, Phosphotriose-Isomerase.
- VI : Ligasen: Diese Enzyme katalysieren die Bindung zwischen zwei Substraten, wobei die Reaktion mit der Lösung einer Pyrophosphatbindung im ATP oder einem anderen einergie-reichen Phosphat verbunden ist. Beispiel: Acetyl-CoA-Carboxylase.

Richtige Antworten: 1. E

2. C

3. D

4. A

5. F

6. A

Frage:

Ordnen Sie den sechs Hauptklassen der Liste I die Erklärungen der Liste II zu!

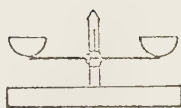
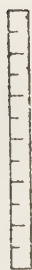
Liste I:

1. Oxydoreduktasen
2. Transferasen
3. Hydrolasen
4. Lyasen
5. Isomerasen
6. Ligasen

Liste II:

- A. Entweder spalten sie über einen nichthydrolytischen Schritt vom Substrat Gruppen ab und hinterlassen dabei eine Doppelbindung oder sie katalysieren die Anlagerung einer Gruppe an eine Doppelbindung.
- B. Sie katalysieren die Bindung zwischen zwei Substraten, wobei die Reaktion mit der Lösung einer Pyrophosphatbindung eines energiereichen Substrates verbunden ist.
- C. Diese Enzyme transferieren eine Gruppe, die nicht Wasserstoff ist, zwischen einem Substratpaar.
- D. Diese Enzyme spalten hydrolytisch Ester-, Äther-, Peptid-, Glykosid-, Säureanhydrid-, C-C oder P-N-Bindungen.
- E. Die Oxydoreduktion zwischen einem Substratpaar wird katalysiert.
- F. Diese Enzyme katalysieren die Umwandlung optischer, geometrischer oder sonstiger isomerer Verbindungen.

Aktivitätseinheiten der Enzyme



10. Aktivitätseinheiten der Enzyme

In diesem Abschnitt werden die Aktivitätseinheiten für Enzyme und ihre Bestimmungsmöglichkeiten besprochen. Neben der gebräuchlichsten Einheit, der Internationalen Einheit IE bzw. U ist das Katal eine wichtige Einheit.

Internationale Einheit

U = IE: katalysiert die Umwandlung
von 1 μ Mol Substrat/Minute

Spezifische Aktivität

U/mg Protein

Molekulare Aktivität

(Wechselzahl)

Zahl der umgesetzten Substrat-
moleküle pro Minute und Enzym-
molekül

Aktivität eines Enzyms in Lösung

U/ml

Neue Einheit

1 Katal = 1 Mol Substrat/Sekunde

10.1. Die internationale Einheit

Eine internationale Einheit - U - (=Unit; früher I.E.) ist die Enzymmenge, welche die Umwandlung von 1 μMol Substrat in einer Minute unter Standardbedingungen katalysiert; Standardbedingungen sind: 25°C, pH-Optimum, Substratsättigung und optimale Aktivierungsbedingungen. Wird bei einem Substrat mehr als eine Bindung angegriffen (Protein, Polysaccharid), so tritt der Begriff 1 μMol Äquivalent an die Stelle des Ausdrucks 1 μMol Substrat. Als Maß der Reaktion wird die Zahl der gespaltenen Bindungen, nicht die der gespaltenen Moleküle genommen. Da die Aktivitäten der verschiedenen Enzyme sich erheblich unterscheiden, werden auch die abgeleiteten Einheiten mU und kU verwendet.

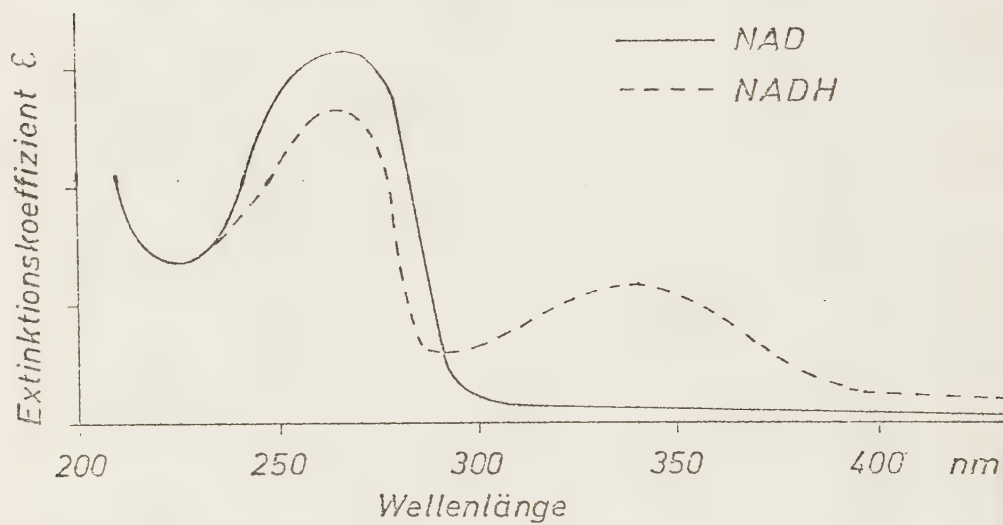
Die spezifische Aktivität bezeichnet die Anzahl Einheiten pro mg Enzymprotein. Diese ist ein gutes Maß für die Reinheit eines Enzyms.

Ist das Molekulargewicht eines Enzyms bekannt, kann man seine molekulare Aktivität angeben. Sie gibt die Zahl der Substratmoleküle - bzw. äquivalenter Gruppen - an, die in 1 Minute von einem Enzymmolekül umgesetzt werden. Sie wurde früher auch als Wechselzahl bezeichnet. Eine hohe Wechselzahl bedeutet, daß die Reaktion am Enzymmolekül sehr rasch verläuft. Meist liegen die Werte bei einigen tausend bis zehntausend Molekülen pro Enzymmolekül und Minute.

Die Aktivität eines Enzyms in Lösung wird in Einheiten pro Milliliter Lösung (U/ml) angegeben.

Eine neue Einheit ist das Katal: 1 Katal = Umsatz von einem Mol Substrat pro Sekunde.

Absorptionsspektren von NAD und NADH



10.2. Aktivitätsbestimmung im optischen Test

Das geläufigste Verfahren zur Aktivitätsbestimmung ist heute der optische Test. Dazu nutzt man die unterschiedlichen Absorptionsbanden von NAD bzw. NADP in reduzierter und oxidiert Form im langwelligeren UV-Licht aus.

Die Pyridin-nucleotid-Coenzyme $\text{NADH} + \text{H}^+$ bzw. $\text{NADPH} + \text{H}^+$ haben bei 340 nm eine Absorptionsbande, die die oxidierten Formen dieser Coenzyme nicht haben. Durch eine Extinktionsmessung bei 340 nm kann die Menge an reduziertem Coenzym bestimmt werden. Viele Reaktionen sind entweder NAD- bzw. NADP-abhängige Reaktionen oder lassen sich mit solchen koppeln.

Mit dem optischen Test sind Aktivitätsbestimmungen und Substratbestimmungen möglich. Bei Aktivitätsbestimmungen wird über Verbrauch oder Bildung von $\text{NADH} + \text{H}^+$ pro Zeiteinheit die Aktivität von Enzymen bestimmt. Bei Substratbestimmungen ist der Verbrauch oder die Bildung von $\text{NADH} + \text{H}^+$ proportional der zu bestimmenden Substratmenge.

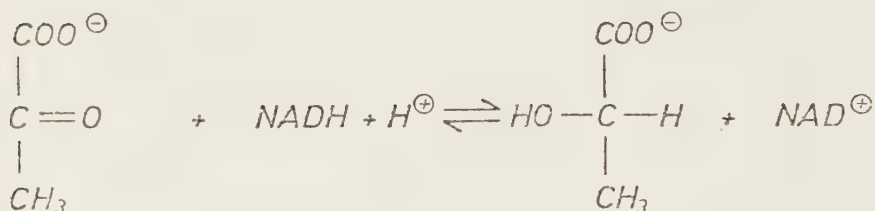
Direkter optischer Test

Pyruvat
als Substrat

Coenzym
(reduziert)

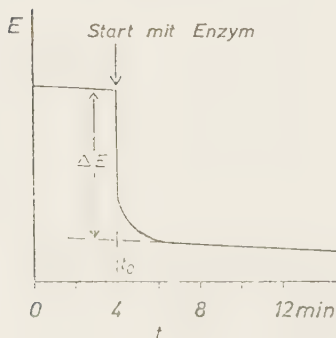
Lactat.

Coenzym
(oxidiert)



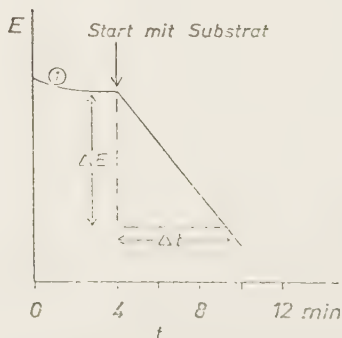
Substratbestimmung

(ΔE ; Endwert)



Enzymbestimmung

($\Delta E / \text{min}$)



① Initiator Abfall wegen im Serum vorhandenen Substrates

$$E = \epsilon \times c \times d$$

10.3. Direkter optischer Test

Beim direkten optischen Test kann die Wirkung einer NAD-abhängigen Dehydrogenase photometrisch verfolgt werden. Ein Beispiel ist die Laktatdehydrogenase-Reaktion.

Bei Katalyse durch die Laktatdehydrogenase reagieren Pyruvat und $\text{NADH} + \text{H}^+$ miteinander, wobei Pyruvat zu Laktat reduziert und $\text{NADH} + \text{H}^+$ zu NAD^+ oxidiert wird. Die Extinktion - gemessen bei 340 nm - nimmt mit laufender Reduktion des Pyruvats und Oxidation des Coenzym ab.

Mit Hilfe des Lambert-Beer'schen Gesetzes $E = \epsilon \times c \times d$ kann die Konzentrationsänderung des reduzierten Coenzym und damit die des Substrates errechnet werden.

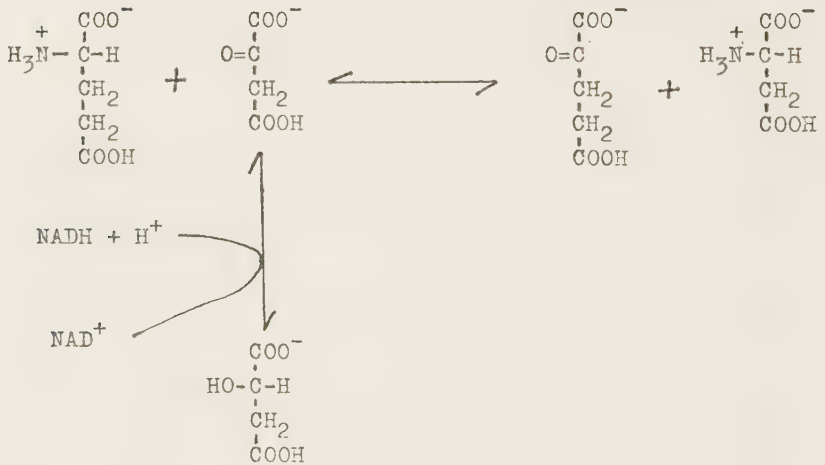
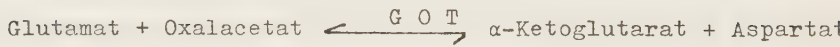
Je nachdem, ob die Reaktion zu einer Substratbestimmung oder zu einer Aktivitätsbestimmung des Enzyms verwendet werden soll, müssen die Reaktionsbedingungen angepaßt werden.

Bei einer Substratbestimmung muß die Substratmenge der die Reaktion limitierende Faktor sein. Es muß feststehen, daß mehr reduziertes Coenzym als Substrat vorgegeben ist; die Enzymmenge muß das gesamte Substrat umsetzen können. Die Extinktionsänderung bei 340 nm von Start bis Ende der Reaktion ist proportional dem gesamten Umsatz an Coenzym und damit an Substrat. Die Reaktionszeit ist hier erst in zweiter Linie interessant. Bei dieser Endwertmethode wird die Reaktion mit Zugabe des Enzyms gestartet.

Bei einer Enzymaktivitätsbestimmung muß das Enzym bzw. dessen Aktivität der limitierende Faktor der Reaktion sein. Substrat und Coenzym müssen im Überschuß vorhanden sein. Bei dieser kinetischen Bestimmung wird die Reaktion durch Zugabe des Substrates gestartet. Wird die Aktivität in z.B. Serum bestimmt, dann muß zu Beginn abgewartet werden, bis das im Serum vorhandene Substrat verbraucht ist. Bei Substratsättigung des Enzyms ist der Extinktionsabfall (340 nm) pro Zeiteinheit konstant. Die Umrechnung in Coenzymverbrauch pro Zeiteinheit ($\mu\text{Mol}/\text{min}$) und damit Aktivität ist leicht.

G e k o p p e l t e r .
optischer Test
Bestimmung von G O T

(GOT: Glutamat-Oxalacetat-Transaminase)



Malat

10.4. Gekoppelter optischer Test

Enzyme, die NAD- bzw. NADP-unabhängige Reaktionen katalysieren, können mit dem gekoppelten optischen Test bestimmt werden. Hierbei wird die eigentlich zu bestimmende bzw. zu verfolgende Reaktion mit einer zweiten Reaktion gekoppelt, die mit einer Oxidation oder Reduktion von NAD^+ bzw. NADP^+ bzw. $\text{NADH} + \text{H}^+$ bzw. $\text{NADPH} + \text{H}^+$ einhergeht.

Dazu muß die zweite - Indikator - Reaktion ein Substrat oder Produkt der Hauptreaktion umsetzen. Ein Beispiel ist die Bestimmung einer Aminotransferase, die die Reaktion zwischen Glutamat und Oxalacetat katalysiert.

Bei dieser Reaktion entstehen aus Glutamat und Oxalacetat das α -Ketoglutarat und Aspartat. Mit der Malat-Dehydrogenase-Reaktion als Indikator-Reaktion kann die Entstehung oder der Verbrauch von Oxalacetat überwacht werden. Die Berechnung der Aktivität der Amino-Transferase-Reaktion erfolgt wie bei einem einfachen optischen Test. Bei einem gekoppelten optischen Test ist dafür zu sorgen, daß die Hauptreaktion der limitierende Schritt ist und daß Substrate und Produkte der Indikator-Reaktion möglichst keinen Einfluß auf den Ablauf der Hauptreaktion haben.

Richtige Antworten: 1. C

2. D

3. E

4. A

5. B

6. E

Fragen:

Ordnen Sie den Begriffen der Liste I die Einheiten bzw. Definitionen der Liste II sinnvoll zu!

Liste I:

1. Internationale Einheit
2. Katal
3. Spezifische Aktivität
4. Molekulare Aktivität
5. Aktivität eines Enzyms in Lösung

Liste II:

- A. Zahl der umgesetzten Substratmoleküle pro Enzymmolekül und Minute
- E. U/ml
- C. katalysiert unter Standardbedingungen die Umwandlung von 1 μ Mol Substrat pro Minute
- D. katalysiert unter Standardbedingungen die Umwandlung von 1 Mol Substrat pro Sekunde
- E. U/mg Protein

6. Aus der Geschwindigkeit der Enzymreaktion wird auf die Enzymaktivität geschlossen,

denn

NADH_2 bzw. NADPH_2 haben im langwelligen UV bei 340 nm ein Absorptionsmaximum

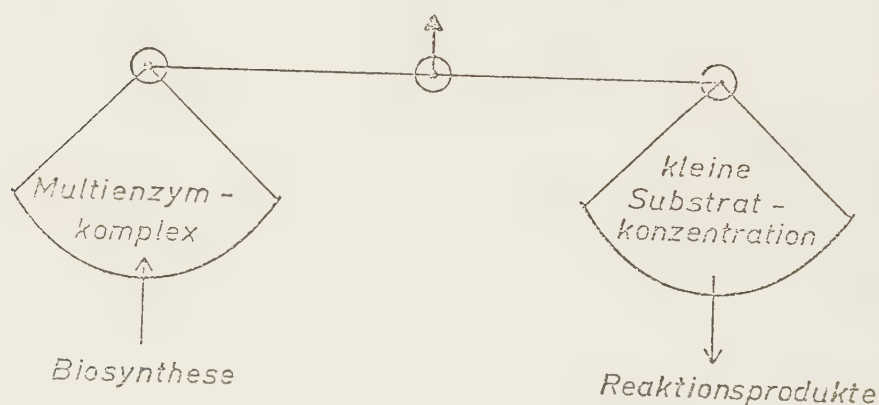
	<u>Aussage 1</u>	<u>Aussage 2</u>	<u>Verknüpfung</u>
A.	richtig	richtig	richtig
B.	richtig	richtig	falsch
C.	richtig	falsch	---
D.	falsch	richtig	---
E.	falsch	falsch	---

11. Enzyme in der Zelle und medizinisch-diagnostische
Bedeutung von Enzymbestimmungen.

Die Bedingungen enzymatischer Tests werden im Versuch
aus Gründen der Standardisierung willkürlich festge-
legt. Sie müssen mit den Bedingungen in der Zelle
durchaus nicht übereinstimmen.



Enzym mit konstanter Anfangskonzentration
Substratsättigung
Reaktion 0. Ordnung
kein Gleichgewicht



11.1. Wirkungsweise der Enzyme in der lebenden Zelle

Im Reagenzglas befindet sich das Enzym in konstanter Anfangskonzentration frei in Lösung. Bei möglicher Inaktivierung im Verlauf der Reaktion arbeitet man meist bei Substratsättigung; die Kinetik entspricht einer Reaktion 0. Ordnung, die Reaktionsgeschwindigkeit wird durch die Enzymaktivität bestimmt. Die Bedingungen werden so gewählt, daß das System weit von der Gleichgewichtslage entfernt ist.

Im Organismus befindet sich das Enzym häufig in einem Multienzym-Komplex oder in Bindung an subzelluläre Strukturen.

Durch Biosynthese wird es laufend erneuert, seine Menge bzw. Aktivität dem jeweiligen Bedarf angepaßt. Die Substratkonzentrationen liegen hier meist in der Nähe der Michaeliskonstanten, also von der Substratsättigung weit entfernt. Dadurch wird die Reaktionsgeschwindigkeit von der Substratkonzentration bestimmt, das Reaktionssystem ist in der Nähe der Gleichgewichtslage. Die Reaktionsprodukte werden ausserdem laufend verbraucht oder entfernt, was in vitro allgemein nicht der Fall ist.

*Enzyme im Reagenzglas
bringen Verständnis für die
Enzyme im Patienten*

11.2. Medizinische Bedeutung der Enzymologie

Für Medizinstudenten ist die Lehre von den Enzymen keine graue Theorie. Ein wenig Kenntnis über Enzyme kann bei der Arbeit mit Patienten in der Klinik sehr von Nutzen sein.

Die Bestimmung von Enzymaktivitäten ist ein wichtiges Hilfsmittel zur Diagnose und Verlaufskontrolle von Krankheiten. Ihre Messung in Blut, Plasma, Serum oder anderen Körperflüssigkeiten erlaubt oft Aussagen über die Erkrankung bestimmter Organe.

Manche Organe, z.B. Herz und Leber, besitzen relativ organspezifische Enzyme oder ein typisches Verteilungsmuster der Isoenzyme, das sie von anderen Organen unterscheidet. Beim gesunden Organismus sind die Zellenzyme in nur sehr geringer Aktivität im Serum nachweisbar; sie stammen aus zerfallenen Zellen. Ist ein Organ geschädigt, treten die zellgebundenen Enzyme in höherer Aktivität in das Blutplasma über. Die Halbwertszeit der Zell-Enzym-Aktivitäten liegt zwischen zwei und drei Tagen.

Aus der Art der im Blut nachweisbaren erhöhten Enzymaktivitäten sind auch Schlüsse auf den Umfang der Zellschädigung möglich. Sind zum Beispiel die Aktivitäten mitochondrialer Enzyme im Blutplasma erhöht, so weist dies auf eine schwerere Zellschädigung hin als eine Aktivitätserhöhung cytoplasmatischer Enzyme.

Ein Anstieg organspezifischer
Enzyme weist auf eine
Schädigung des Organs hin.

Fehlende Enzymaktivität
kann eine angeborene
Erkrankung aufdecken.

Wichtig für die Leber-Diagnostik sind vor allem die Enzyme des Aminosäurestoffwechsels. Aktivitätsbestimmungen der verschiedenen Aminotransferasen und der Glutamatdehydrogenase gehören heute zur Routine jeder ausführlichen Untersuchung. Dabei sind nicht nur die einzelnen Aktivitätserhöhungen wichtig, sondern vor allem die Relation der verschiedenen Aktivitäten. So gehören zu vielen Leber-Erkrankungen charakteristische Enzymmuster.

Sehr starke Aktivitätserhöhungen der Aminotransferasen gibt es bei entzündlichen oder toxischen Schädigungen des Leberparenchyms und bei Neoplasien. Die stärksten Erhöhungen finden sich verständlicherweise bei Zellnekrosen. Bei akuter Hepatitis kann zum Beispiel die Transaminasen-Aktivität innerhalb weniger Tage auf den 20 - 30-fachen Wert von Gesunden ansteigen. Mit der Heilung gehen die Enzymaktivitäten langsam zu den Normalwerten zurück. Damit ist mit Aktivitätsbestimmung von Enzymen auch eine stetige Verlaufskontrolle und Prognose möglich.

Mit Hilfe der Bestimmung von Serumtransaminasen kann man beim Ikterus des Neugeborenen differentialdiagnostisch unterscheiden, ob er physiologisch bedingt oder Zeichen einer hämolytischen Krise oder einer Gallengangsatresie ist.

Enzymaktivitäten können auch in Blutzellen oder Organpunktaten bestimmt werden. Aus fehlenden oder zu niedrigen Enzymaktivitäten kann man hier auf angeborene Enzymdefekte und damit Stoffwechselkrankheiten schliessen.

*Die Wirkung von Medikamenten
kann auf der Änderung
enzymatischer Aktivität beruhen*

11.3. Einfluß von Pharmaka auf Enzyme

Viele Pharmaka wirken durch Hemmung von Enzymen. Allergien können mit Antihistaminika behandelt werden, die eine chemische Ähnlichkeit mit Histamin haben. Hier haben wir also ein Beispiel für eine kompetitive Hemmung. Curare hemmt als Muskelrelaxans nicht kompetitiv die Wirkung der Überträger-substanz an der motorischen Endplatte. Atropin hemmt die Tätigkeit von glatter Muskulatur und von Drüsen, da es Acetylcholin kompetitiv verdrängt.

L I T E R A T U R

Naturwissenschaftliche Voraussetzungen:

BEYERMANN, K.: Chemie für Mediziner, Kurzgefaßtes Lehrbuch für Studenten; 3. Thieme Verlag, 3. Auflage Stuttgart 1976

Lehrbücher (deutsch):

- BALDWIN, E.: Das Wesen der Biochemie; G. Thieme Verlag, 4. Auflage Stuttgart 1977
- FARTLEY, W., L.M. DINE und P. BARKS: Biochemie, Eine Einführung für Mediziner; Verlag Chemie, Weinheim 1976
- FUDDECKE, E.: Grundriss der Biochemie, Für Studierende der Medizin, Zahnmedizin und Naturwissenschaften; Verlag W. de Gruyter und Co., 5. Auflage Berlin 1977
- FÜRSTER, H. und L. LACKO: Physiologische Chemie; Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart 1975
- HARPER, H.A., G. LÖFFLER, P.E. PETRIDES und L. WEISS: Physiologische Chemie; Springer Verlag, Berlin, Heidelberg und New York 1975
- KARLSON, P.: Kurzes Lehrbuch der Biochemie; G. Thieme Verlag, 10. Auflage Stuttgart 1977
- RAPOPORT, S.M.: Medizinische Biochemie; VEB Verlag Volk und Gesundheit, 7. Auflage Berlin 1977

Lehrbücher (englisch):

- CANTAROW, A. and L. SWEETARTZ: Biochemistry 4th Edition, W.E. Saunders Corp., London Philadelphia 1967
- HARPER, H.A. Review of Physiological Chemistry; Blackwell Scientific Publications, 16. Auflage Oxford and Edinburgh 1977
- MAHLER, H.R. and E.H. CORDES: Biological Chemistry; Harper International Edition by Harper and Row, New York 1967

Einzelgetieler:

- AEEL, H. Einführung in die praktische Biochemie für Studierende der Medizin, Veterinärmedizin, Pharmazie und Biologie ; Akademische Verlagsgesellschaft, Frankfurt 1965
- FLÖRKEMEIER, V und T. KERSCHLAUM: Neue objektive Prüfungsverfahren in der Medizin und Zahnmedizin, Zahnärztliche Mitteilungen, Heft 5, Seite 227, 1975; Heft 6, Seite 228, 1975; Heft 7, Seite 325, 1975; Heft 8, Seite 372, 1975 und Heft 9, Seite 439, 1975
- KARLSON, P.: Pathobiochemie; G. Thieme Verlag, Stuttgart 1978

LEHNINGER, A.L.: Biochemie; Verlag Chemie,
2. Auflage Weinheim 1977

MEHNERT, H. und H. FÖRSTER: Stoffwechselkrank-
heiten - Biochemie und Klinik; G. Thieme
Verlag Stuttgart 1970

SCHMIDT, B.: Physiologische Chemie für Examens-
kandidaten; F.K. Schattauer Verlag, Stuttgart
und New York 1973

SNELL, F.M., S. SHULMAN, R.P. SPENCER und C. MOOS:
Biophysikalische Grundlagen von Struktur und
Funktion, Bd. 1: Bausteine und Organisation
des Biologischen Systems; S. Hirzel Verlag,
Stuttgart 1966

SNELL, F.M., S. SHULMAN, R.P. SPENCER und C. MOOS:
Biophysikalische Grundlagen von Struktur und
Funktion, Bd. 2: Thermodynamische und kinetische
Grundlagen biologischer Vorgänge; S. Hirzel
Verlag, Stuttgart 1972

Zeichnungen und Diagramme sind zum Teil mit gering-
fügigen Änderungen den oben aufgeführten Werken
entnommen worden.

LEBENS LAUF

Ich bin am 16. Oktober 1946 als drittes von sechs Kindern in Herne/Westfalen geboren. Meine Eltern sind der Landwirtschaftsrat a.D. Gerhard Weßling und seine Frau Dorothea, geb. Frehe. Seit ihrer Flucht aus Oberschlesien leben meine Eltern ständig in Herne.

Dort besuchte ich von 1953 bis 1957 die Volksschule und von 1957 bis 1966 den neusprachlichen Zweig des Pestalozzi-Gymnasiums.

Nach meinem Abitur ging ich für zwei Jahre zur Bundeswehr, die ich als Leutnant der Reserve verließ.

Ab dem Sommersemester 1968 studierte ich in Mainz Zahnheilkunde und bestand am 29. März 1969 das Vorphysikum, am 7. Oktober 1970 das Physikum und erhielt am 5. Juni 1973 mit dem Staatsexamen die Approbation.

Am 27. November 1973 heiratete ich meine Frau Hildegard, geb. Seufert. Wir bekamen am 26. Januar 1975 eine Tochter.

Vom 15. Juni 1973 bis zum 15. Oktober 1974 arbeitete ich in der Chirurgischen Poliklinik der Zahn-, Mund- und Kieferklinik der Universität Mainz. Vom 15. Oktober 1974 bis zum 7. Juli 1975 arbeitete ich in der Praxis des Dr. H. Amter in Hanau/Main als Assistenz Zahnarzt.

Am 14. Juli 1975 habe ich in Bacharach/Rhein eine eigene zahnärztliche Praxis eröffnet.

